

CYCLOLAB Ciklodextrin Kutató Fejlesztő Laboratórium, Kft.

Szente Lajos

**Ciklodextrinek és vendégmolekulák közötti szupramolekuláris
kölsönhatások, és példák ezek gyakorlati hasznosítására**

Tudományos eredmények összefoglalása

az MTA doktora cím elnyeréséért

Budapest, 2003



A dolgozatban előforduló rövidítések:

α CD: alfa-ciklodextrin

β CD: béta-ciklodextrin

γ CD: gamma-ciklodextrin

HPBCD: 2-hidroxi-propil- β -ciklodextrin

HPGCD: 2-hidroxi-propil- γ -ciklodextrin

Hben β CD: hidroxi-butenil- β -ciklodextrin

HEGCD: hidroxi-etil- γ -ciklodextrin

RAMEA: random metilezett α -ciklodextrin

RAMEB: random metilezett β -ciklodextrin

RAMEG: random metilezett γ -ciklodextrin

DIMEA: hexakis-(2,6-di-O-metil)- α -ciklodextrin

DIMEB: heptakis-(2,6-di-O-metil)- β -ciklodextrin

TRIMEB: heptakis-2,3,6-tri-O-metil- β -ciklodextrin

SUMEB: szukcinil-metil- β -ciklodextrin

AcACD: 2,3,6-tri-O-acetil- α -ciklodextrin

α CDP : α -ciklodextrin polimer

β CDP: β -ciklodextrin polimer

DSC: Differenciális pásztázó kalorimetria

TAS: pirolízis-rétegekromatográfia (Thermomikro Abtrenn- und Applikationsverfahren von Substanzen)

EGA: fejlődő gáz elemzés (Evolved Gas Analysis)

MALDI-TOF: mátrixszal segített, lézer deszorpciós tömegspektrometria

COX-I és COX-II : a prosztaglandin szintézisre ható Ciklo-OXigenáz enzimek

K_{ass} : a ciklodextrin komplexek asszociációs, vagy stabilitási állandója

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
1.1. A ciklodextrinek	4
1.2. A ciklodextrin zárványkomplexek	6
1.3. A ciklodextrin származékok	8
1.4. A ciklodextrin technológia jelentősége	12
2. Célkitűzések	17
3. A tudományos eredmények összefoglalása	18
<i>3.1. Példák a ciklodextrin technológia gyógyszeripari alkalmazására</i>	<i>18</i>
3.1.1. Ciklodextrinek az orális gyógyszerformulációkban	20
3.1.2. Ciklodextrinek alkalmazása inhalációs gyógyszerformákban	27
3.1.3. Ciklodextrinekkel javított kúpformulációk	28
3.1.4. Ciklodextrinekkel javított szemészeti formulációk	30
3.1.5. Ciklodextrin származékok a vízoldékonyság fokozására	36
3.1.6. Ciklodextrinek a parenterális gyógyszerformákban	39
3.1.7. Hidroxialkil- és hidroxialkenil ciklodextrinek	45
<i>3.2. Példák a ciklodextrinek élelmiszeripari és kozmetikai alkalmazására</i>	<i>49</i>
3.2.1. Molekulárisan kapszulázott aromaanyagok	49
3.2.2. Természetes színezékek ciklodextrin komplexei	57
<i>3.3. Példák a ciklodextrinek növényvédő-szerekben történő alkalmazására</i>	<i>58</i>
<i>3.4. Példák az „üres „ ciklodextrinek alkalmazására</i>	<i>61</i>
3.4.1. Az üres ciklodextrinek terápiás alkalmazása	62
3.4.2. Az üres ciklodextrinek környezetkémiai alkalmazása	66
4. Irodalmi tevékenység	69
5. Összefoglalás: a dolgozatban bemutatott eredmények jelentősége	70
6. Köszönetnyilvánítás	72
7. Az értekezés alapjául választott közlemények jegyzéke	72

1. Bevezetés

Akadémiai doktori értekezésemben a kandidátusi fokozat megszerzését követő tizenöt év tudományos tevékenységét foglaltam össze, melyet a Chinoin Gyógyszergyár Biokémiai Kutató Laboratóriumában, illetve - 1998-tól annak utódjában - a Cyclolab Ciklodextrin Kutató Fejlesztő kft. laboratóriumában folytattam.

A dolgozatban bemutatott munka nagy része alkalmazott kutatási és fejlesztési tevékenység, melynek eredményei nem kizárólag a saját munkámat reprezentálják. Emiatt igyekeztem hangsúllyal kezelni és szerepeltetni azokat a témákat, melyek eredményeinek elérésében meghatározó szerepet töltöttem be.

A ciklodextrin alapú, szabályozott hatóanyag-leadású szupramolekuláris rendszerek (többnyire ciklodextrin-zárványkomplexek) a 70-es évek közepétől fokozatosan mozdultak el a kutatólaboratóriumok, a tudományos érdekességek világából a gyakorlati felhasználhatóság, az ipari megvalósíthatóság és a termékfejlesztés irányába.

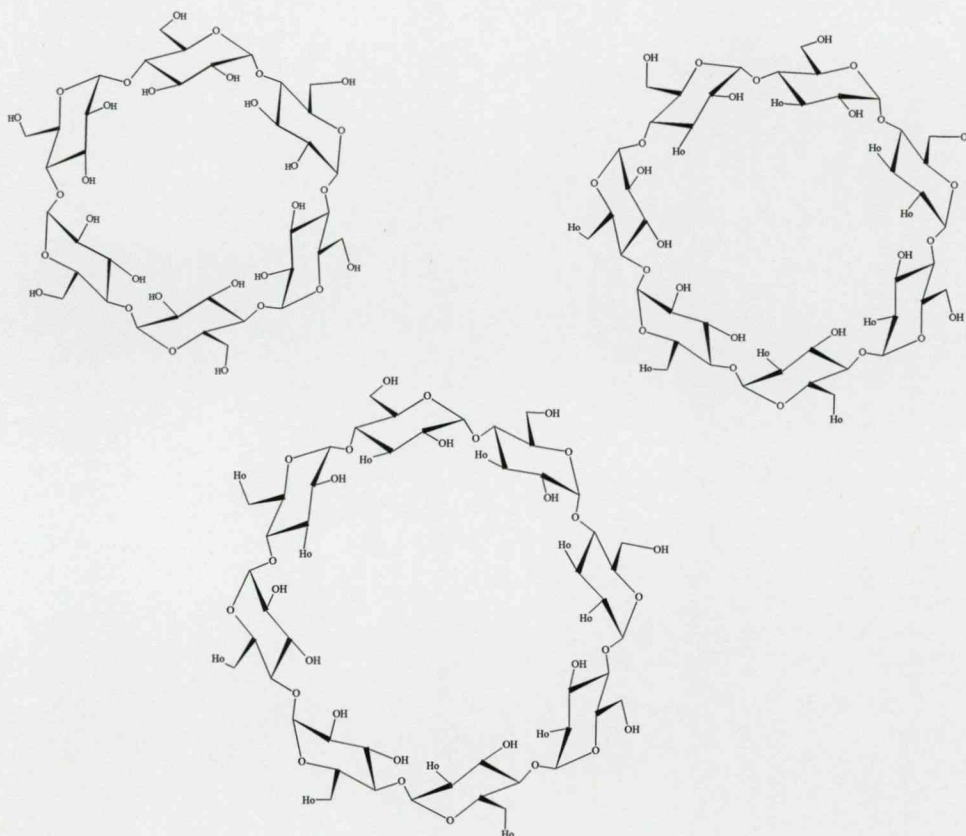
Szerencsésnek mondhatom magam, hiszen az elmúlt 28 év alatt, Szejtli professzor közvetlen munkatársaként, ezen a szűk szakmai területen működve, aktív részese lehettem a laboratóriumi kémcsőkísérletek szintjéről induló ciklodextrin-technológia világméretű elterjedésének, a tudományos eredmények termékekben, és ipari eljárásokban történő megvalósulásának. Úgy érzem, kutatót nagyobb öröm nem érhet annál, mint ha egy kutatási témája – még általa belátható időn belül- a laboratóriumi kísérletektől az ipari termékben vagy eljárásokban történő megvalósulásig eljut. A mi kutató-fejlesztő tevékenységünk elismerten közrejátszott abban, hogy a keményítőalapú ciklikus oligoszacharidok ipari méretben, állandó minőségben és gazdaságosan gyárthatóvá és különféle célokra hasznosíthatóvá váltak. Talán nem véletlen, hogy a ciklodextrineket - tonnás léptékben, a világpiacot megelőzve - éppen Magyarországon, a Chinoin Gyógyszergyárban állítottak elő. (Azóta a világ nagyot változott és évi tízezer tonnás szinten, már más országokban folyik a ciklodextrinek gyártása és nem idehaza. Ez a „jelenség” azonban egy más tudományterület disszertációs anyaga lehetne.)

A hetvenes években az elriasztóan magas ciklodextrin árak mára a technológiai segédanyagok átlagos árszintjére süllyedtek, az 1975-körül még 1000 USD/kg-os béta-ciklodextrin ma kb. 3-5 USD/kg körüli áron kapható. Ugyanakkor pl. az intravénásan injektálható minőségű, különleges tisztaságú ciklodextrin-származékok

ára több száz illetve több tízezer USD/kg nagyságrendben mozog. Kiderült, hogy a ciklodextrinek – egy korábbi, téves közléssel ellentétben (*French, D.: Adv. Carbohydr. Chem. 12. 189. 1957*) - nem toxikusak, a környezetbe kerülve biológiailag tökéletesen lebomlanak, s mindezen kedvező biológiai/ökológiai jellemzőik mellett alkalmasak a molekuláris kapszulázásra, szabályozott hatóanyagleadású, nem-kovalens szupramolekuláris rendszerek előállítására.

1.1. A ciklodextrinek

A ciklodextrinek (CD) a keményítőtől enzim konverzióval képződő, leggyakrabban 6, 7, vagy 8 glükopiranoz egységből álló, kónikus henger alakú molekulák, (1.ábra) amelyekben a glükóz egységek α 1,4 - glikozidos kötéssel kapcsolódnak.



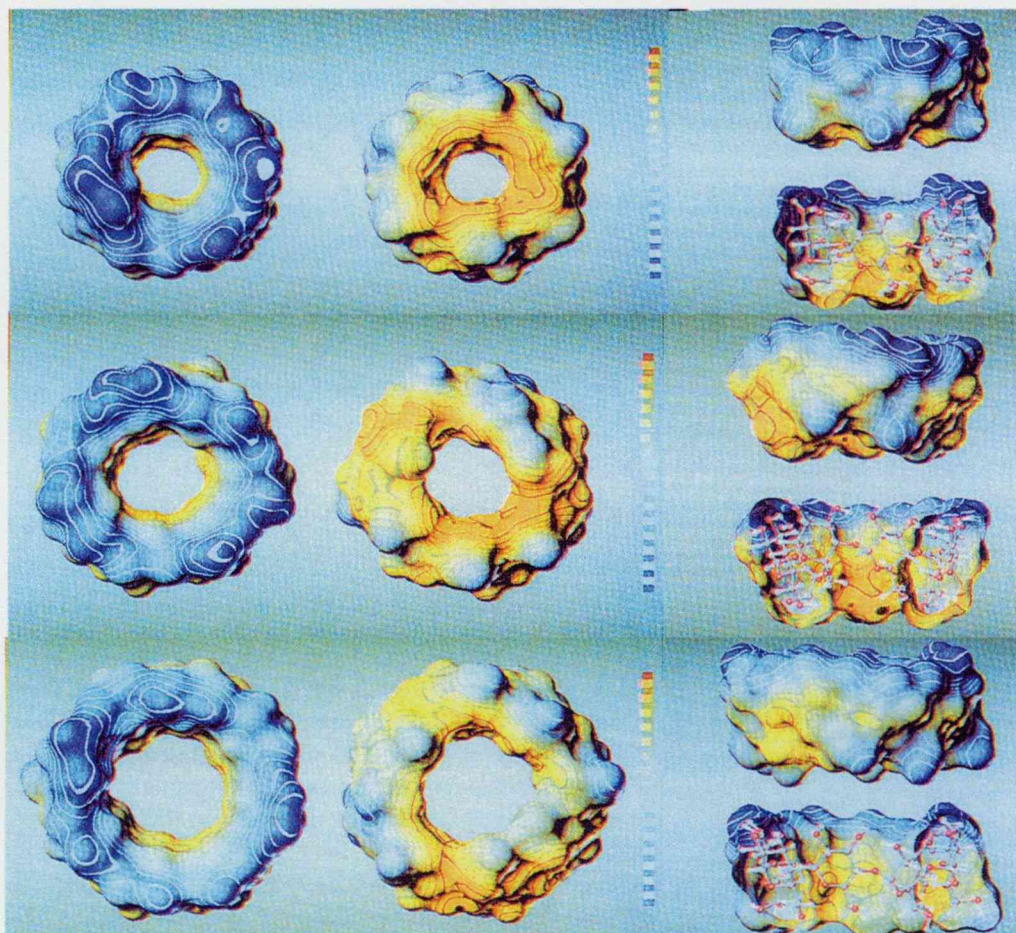
1. ábra Az alfa-, a béta- és a gamma-ciklodextrin szerkezete

A ciklodextrinek azon kevés ipari nyersanyagok közé tartoznak, melyek a petrokémiától függetlenek, forrásuk - a keményítő - a növényi fotoszintézis következtében folyamatosan újratermelődő poliszacharid. A keményítőtől egy

viszonylag egyszerű enzimés átalakítással ma már jó termeléssel, nagy tisztaságban és gazdaságosan termelhetők.

A ciklodextrin molekulák különleges sajátossága, hogy hossz tengelyük mentén mindkét végén nyitott üreggel rendelkeznek. Ezek az üregek olyan méretűek, melyekbe mind alifás molekulák, mind egy, két, három vagy még több aromás gyűrűből álló szerkezetek részben vagy egészen beférnek. A glükózegységek C1 konformációja következtében a ciklodextrin molekula egy különleges amfifil jelleget mutat. A ciklodextrinek üregét bélelő glikozidos oxigén hidatomok és hidrogének miatt a molekula *belső felszíne apoláris* sajátosságú. A külső felszínen elhelyezkedő primer és szekunder hidroxil csoportok a molekulát *kívülről poláris* teszik.

A molekula felszíne és az üreg belseje közötti polaritási viszonyok (2. ábra) meghatározó szerepet játszanak a zárványkomplex-képződés során.

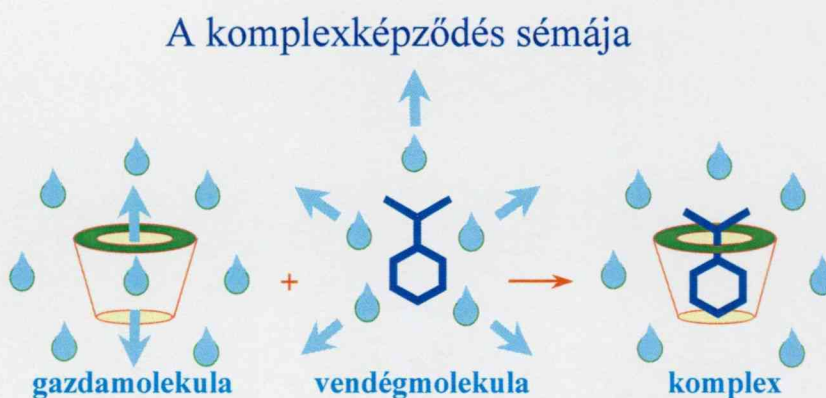


2. ábra Az alfa-, a béta- és a gamma-ciklodextrin külső felszínének és üregének hidrofíl (kék) és lipofíl (sárga) helyei (Lichtenthaler, F. W. és Immel S. : Liebigs Ann. Chem. 27-37. 1996.)

Ami a ciklodextrinek molekuláris dimenzióit illeti, e ciklikus oligoszacharidok és származékaik, valamint zárványkomplexeik is a nano-mérettartományba esnek. A ciklodextrinek üregátmérője 0.49 (α CD), 0.62 (β CD) illetve 0.79 (γ CD) nm, míg a molekuláris cylinder magassága 0.79 nm. Napjaink divatos tudományos-technikai szakkifejezésével élve, a ciklodextrinek tehát „nano anyagok” és az alkalmazásukkal kapcsolatos eljárások a *nano-technológia* körébe sorolhatók.

1.2. A ciklodextrin zárványkomplexe

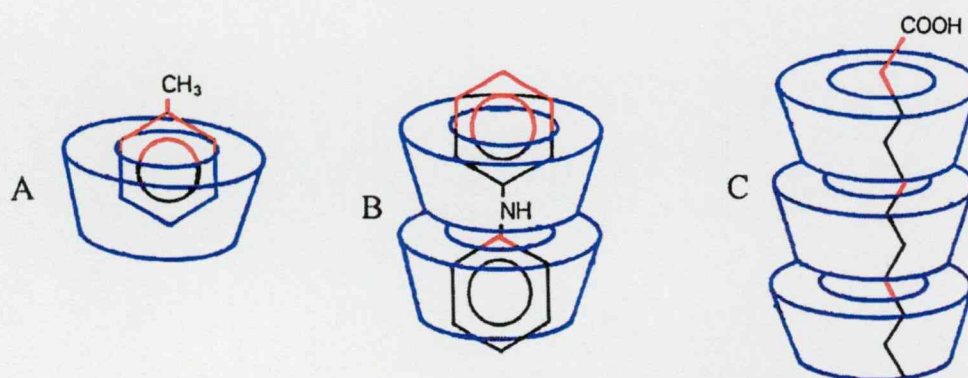
Egy vagy több ciklodextrin molekula képes magába zárni számos, a víznél kevésbé poláris, geometriailag az adott üregnek megfelelő méretű molekulákat, melyek lehetnek gyógyszer hatóanyagok, élelmiszer aromák, színezékek, növényvédőszer vagy illatanyagok stb. A ciklodextrin zárványkomplexe képződésekor a ciklodextrin üregnek megfelelő méretű és polaritású (víznél kevésbé poláris) vendégmolekula és a ciklodextrin gazdamolekula között egy nem –kovalens kölcsönhatás (van der Waals, apolár-apolár, hidrogén-hidakkal erősített) lép fel. A képződött komplexben a bezárt vendégmolekula időlegesen, a körülményektől függő mértékben és ideig tartózkodik. Az „üres” ciklodextrin üregében tartózkodó energetikailag kedvezőtlen állapotú (ti. apoláris környezetben vannak) vízmolekuláknak apoláris vendégmolekulával történő helyettesítése a komplexképződés kulcslépése (3.ábra), miáltal a rendszer szabadenergiája csökken. (Takeo, K. Kuge, F. Staerke 24. 331 1972., Cramer, F. Hettler H. Naturwiss. 54. 625. 1967.)



3. ábra A ciklodextrin zárványkomplekképződés egyszerűsített folyamata (az ábrán lévő cseppek vízmolekulákat reprezentálnak).

Az α -ciklodextrines komplexképzéskor, az üregben levő víz vendégmolekulával történő helyettesítéskor a már említett szabadenergia változás mellett az α -ciklodextrin gyűrű alapállapotban meglévő feszültsége is megszűnik, azaz a komplexképzéskor a molekuláris henger szerkezete is energetikailag kedvezőbb konformációt vesz fel. (Saenger, W. *Angew. Chem.* 86. 594. 1974.)

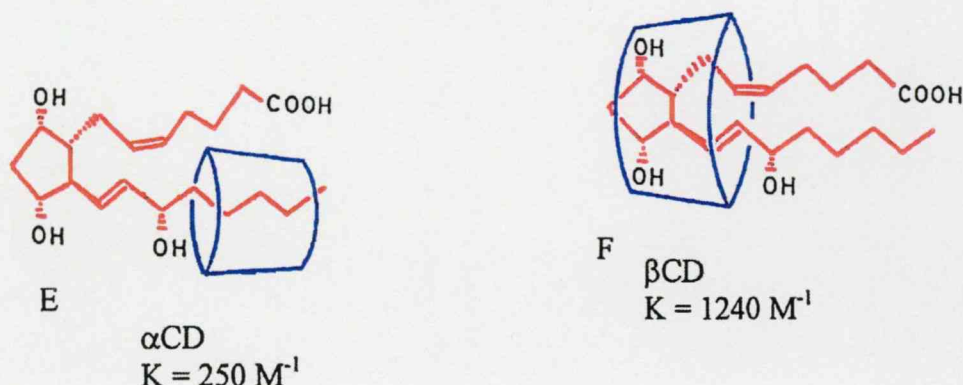
A ciklodextrinek zárványkomplex-képző hajlamuk miatt rendkívül sokoldalú technológiai hasznosítási lehetőséggel rendelkeznek. A zárványkomplex-képződés lényegében egy molekuláris szintre kicsinyített csomagolási-kapszulázási folyamat. A ciklodextrin zárványkomplexek nem-kovalens szupramolekulák, molekulaegyüttesek, kovalens kötés kialakulása (új vegyület képződése) nélkül ipari termékekben, technológiákban, elválasztás-technikai műveletekben korábban elképzelhetetlen és jól hasznosítható hatásokat kínálnak. A molekuláris szinten kapszulázott állapot sokféleségének szemléltetésére különböző molarányú ciklodextrin/vendégmolekula zárványkomplexek sematikus szerkezetét a 4. ábra mutatja be.



4. ábra A toluol/ β CD 1:1, a difenilamin / β CD 1:2 és egy zsírsav/ β CD 1:3 molarányú zárványkomplex sematikus szerkezete. (Szejtli, J. *Cyclodextrin Technology* Dordrecht, Holland, 1988.)

A zárványkomplexek szerkezete és a komplexálás mértéke nemcsak a gazda/vendég molaránytól, hanem azok kölcsönös geometriai megfelelésétől is függ. A proszttaglandin hatóanyag pl. a két, különböző üregméretű (az α - és a β -)

ciklodextrinnel azonos molarányban, de különféle módon záródik komplexbe. (5.ábra)



5. ábra A proszttaglandin α - és β -ciklodextrin 1:1 molarányú komplexének feltételezett szerkezete. (Uekama K. Chem. Pharm. Bull. 26. 1195-200. 1989.)

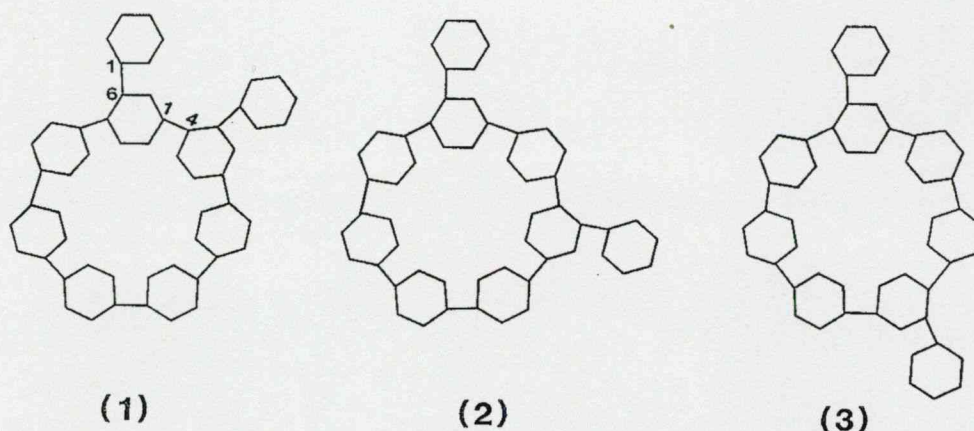
A különféle üregméretű ciklodextrinek ugyanazon vendég molekula különböző részleteit fedik le, attól függően, melyik részük illeszkedik legjobban az adott gazdamolekula üregébe. Ennek következtében a képződött komplexek stabilitási állandója is jelentősen különbözhet. (az 5. ábrán pl. 250 és 1240 M^{-1})

1.3. A ciklodextrin származékok

Az irodalomban az α - a β - és a γ -ciklodextrint natív, olykor „első generációs” ciklodextrineknek nevezik. A ciklodextrin-származékok, eszerint „második generációs” ciklodextrineknek tekinthetők. A natív ciklodextrinek kémiai sokféleképpen alakíthatók tovább, hiszen glükopiranoz egységenként három helyettesíthető hidroxilcsoport kínál lehetőséget különféle szubsztitúciókra. A jelenleg ismert és igazolt szerkezetű ciklodextrin származékok száma 1500-ra tehető.

A gyakorlati szempontból legfontosabb kémiai módosítások a ciklodextrinek vízzoldékonyságának fokozását, ritkábban az oldékonyság csökkentését célozzák. Így vízben jobban, (metil-, hidroxil-alkil-, szulfobutil-, karboxi-alkil- stb.) vagy éppen sokkal rosszabbul oldható (propil-, butil-, per-O-acetil-, palmitoil- stb.) származékok és térhálósított ún. ciklodextrin-polimerek képezhetők. A ciklodextrinek enzim útján is származékokká alakíthatók, ilyenek az ún. elágazó láncú (pl. glükózil-

maltozil, maltotriozil- stb.) ciklodextrinek. Az elágazó láncú ún. „branched„ ciklodextrinek egyszerűsített szerkezetét a 6. ábra, különböző di-glükozil- β -ciklodextrinek példáján mutatja be. (Koizumi, K. Utamura, T.: *Carbohydr. Res.* 153. 55-67. 1986.)



6. ábra Az AB (1), az AC (2) és az AD (3) di-glükozil- β -ciklodextrinek

sematikus szerkezete

A vízben jól oldódó és vízzoldható zárványkomplexeket képező optimális ciklodextrin származéknak (még nem találták meg) a parenterális gyógyszerbevitelben lehet fontos szerepe. A jelen hatósági állásfoglalások ismeretében e molekulának a következő feltételeket kell(ene) kielégítenie:

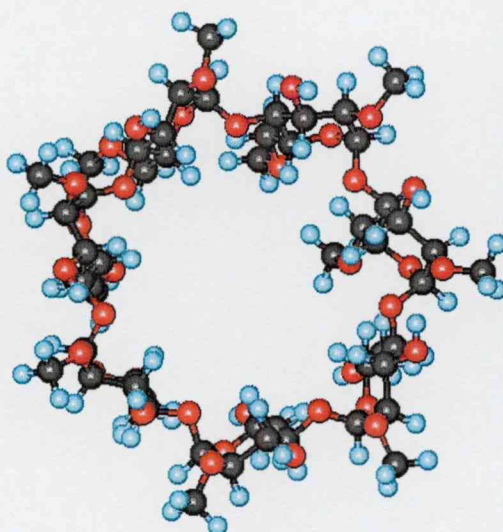
- nagyfokú vízzoldékonyság normál körülmények között
- olcsón, egyszerűen előállítható
- nagy kémiai tisztaságban elérhető
- nagy dózisban és krónikus kezelés során sem toxikus
- hatékonyan komplexál/szolubilizál lipofil hatóanyagokat
- vizes oldatban hősterilizálható, nagy kémiai stabilitású
- nem komplexálja a sejtfelszíni lipideket, fehérjéket egyéb membránalkotókat
- farmakológiailag semleges (önálló biológiai hatása nincs)
- a keringésben kis molekulásúlyú metabolitokká bomlik és kiürül

A fenti igényeket kielégítő ciklodextrin származék keresése még nem fejeződött be, ha egyáltalán létezik ilyen.

Jelenleg az ipari méretekben is gyártott és felhasznált ciklodextrin származékok a következők:

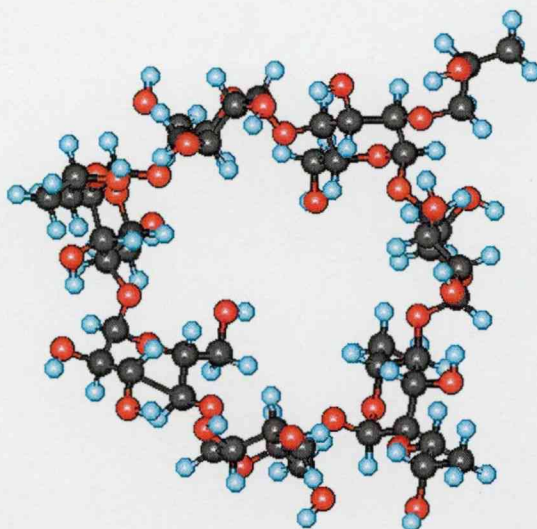
- metilezett- β -ciklodextrinek (heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin és a random metilezett- β -ciklodextrin)
- hidroxipropilezett- β - és γ -ciklodextrinek
- szulfobutilezett- β -ciklodextrin
- acetilezett β - és γ -ciklodextrinek
- reaktív ciklodextrinek (klórtiazinil- β -ciklodextrin)
- elágazó láncú ciklodextrinek (glükózil és maltozil β -ciklodextrinek)

A gyakorlati jelentőségű és iparilag is gyártott ciklodextrin származékok közül dolgozatomban témakörébe leginkább a metilezett- β -ciklodextrinek, a 2-hidroxipropilezett- β - és γ -ciklodextrinek és a térhálósított, keresztkötött ciklodextrin polimer származékok illenek. A metilezett β -ciklodextrinek közül a heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin (DIMEB) szerkezetét a 7. ábrán szereplő molekulamodell szemlélteti.



7. ábra A heptakis-2,6,-di-O-metil- β -ciklodextrin (DIMEB) molekulamodellje

A hidroxialkilezett ciklodextrinek közül a gyakorlati szempontból legjelentősebb a 2-hidroxi-propil- β -ciklodextrin (HP β CD), melyet EnapsinTM és MolecusolTM néven a Janssen Pharmaceutica illetve a Johnson & Johnson cégek védjegyeztek általános gyógyszer szolubilizálószerként. A ciklodextrin származék sematikus szerkezetét egy átlagosan 3-as szubsztitúciós fokú változat példáján a 8. ábra mutatja.

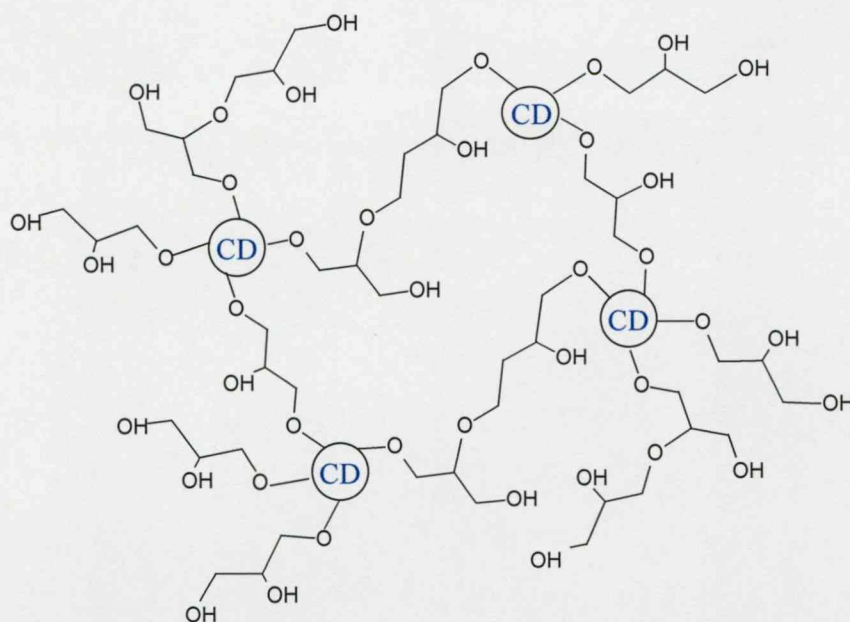


8. ábra A 2-hidroxi-propil- β -ciklodextrin (átlagosan 3 szubsztitúciós fok) molekula modellje

A metilezett ciklodextrin származékokat (mind a random módon metilezett, mind a heptakis-2,6,-di-O-metil- β -ciklodextrint) munkáim során lipofil hatóanyagok (paclitaxel, zsírsavak és karotinoidok) vízdékonyságának fokozására, parenterális toxicitás csökkentésére (karrier fehérjék helyettesítésére) és környezetvédelmi célra (immobilizálásra) használtam. A vízben szintén jól oldódó, statisztikusan helyettesített, sok izomer keverékből álló, nem kristályosodó 2-hidroxi-propil- β -ciklodextrin sajátosságainak és alkalmazási lehetőségeinek vizsgálatát mind gyógyszeripari mind élelmiszeripari vonatkozásban elvégeztem. Ezen hidrofil szubsztituenseket tartalmazó, vízdéható származékok közül a hidroxi-propil- γ -

ciklodextrinnel sikeresen formulázott diclofenac hatóanyagot tartalmazó szemészeti készítményt fejlesztettünk.

A ciklodextrin polimerek közül munkáim során a vízben nem oldódó, de vizes közegben jól duzzadó α - és β -ciklodextrin térhálósított változatát környezetvédelmi céllal, elemi jód megkötésére használtam. A ciklodextrin polimerek sematikus szerkezetét a 9. ábrán láthatjuk.



9. ábra Az epiklórhidrinnel keresztkötött ciklodextrin polimer sematikus szerkezete
(CD: ciklodextrin)

A natív ciklodextrinekhez hasonlóan származékaik és a ciklodextrin alapú polimerek is megőrzik zárványkomplex-képző sajátásaikat, de azonos vendégmolekulákkal különféle stabilitási állandójú és moláris sztöchiometriájú komplexeket alkothatnak.

1.4. A ciklodextrin technológia jelentősége

A ciklodextrin technológia, a ciklodextrin molekula sajátos szerkezetének/geometriájának köszönhetően egy molekuláris szintre miniaturizált csomagolási eljárást jelent. Attól függően, hogy milyen hatóanyagot, milyen típusú ciklodextrinbe, milyen erősséggel és mértékben „csomagolunk”, az eljárás más-más alkalmazási területet érint. Ha farmakológiailag aktív anyag a vendégmolekula, akkor

gyógyszeripari, ha aroma, akkor élelmiszeripari, ha illatanyag, kozmetikai, ha növényvédőszer, akkor agrokémiai technológiáról beszélhetünk.

Az alapvetően molekulaüreg-molekula kölcsönhatáson alapuló, időleges, és reverzibilis, nem-kovalens komplexképzés, tehát szinte minden iparág számára kínál lehetőségeket. Az elmúlt 30 évben a nemzetközi ciklodextrin kutatás-fejlesztés az adott korszak általános technikai ismeret- és igény szintjének megfelelően csaknem minden lehetőséget feltárt. Ezen felismerésekből viszonylag sok gyakorlati eljárás vagy termék keletkezett. Szejtli 1975-ben, egy eredetileg belső használatra írt monográfiájában, már négy olyan alkalmazási területet, illetve terméktípust jelölt meg, ahol a ciklodextrinek a jövőben (azaz ma!) fontos szerephez juthatnak.

Ezek:

- *zárványkomplexek* (farmakon, aroma, illat, peszticid stb.)
- *ciklodextrin-származékok* (oldékonyságfokozók, biotechnológiai adalékok, parenterális gyógyszerivóanyagok stb.)
- *ciklodextrin polimerek* (Sephadex-típusú gyöngypolimerek mint kromatográfiás állófázisok, sebkezelő anyagok)
- „üres” *ciklodextrinek*, mint segédanyagok (formulázási segédanyagok, tablettázási adalékok, biológiai lebomlásokat segítő adalékok stb.)

Az 1982-ben megjelent első kézikönyvében (*Cyclodextrins and their Inclusion Complexes, Akadémiai Kiadó, Budapest.*) Szejtli már nagyszámú, széles területre kiterjedő saját kutatási-fejlesztési eredmény és tapasztalat birtokában részletesen is kifejti a ciklodextrin technológiában az addig már megismert és még szunnyadó lehetőségeket, egyúttal megjelöli a ciklodextrin technológia alkalmazásának korlátait is.

Miért tudott a ciklodextrin technológia ilyen széles körben elterjedni?

A ciklodextrin zárványkomplexek speciális előnye, hogy azok nemcsak különleges körülmények között (pl. -150 °C-on, 100 at. nyomáson, He atmoszférában), hanem normál körülmények között, és az élők homeosztatikus viszonyai mellett is (semleges pH, vizes közeg, ionkörnyezet, hőmérséklet stb.) képződnek. E körülmények között a komplexek kellően stabilak, de nem extrém nagy stabilitásúak, azaz a disszociációjuk (hatóanyag-leadás) sem igényel különleges, a fiziológiától jelentősen eltérő környezetet.

A ciklodextrinekkel molekuláris szinten kapszulázott hatóanyagokat tartalmazó formulációk korszerűbb és több szempontból kevezőbb sajátságú formulációk és alapvetően más elven működnek, mint a jelenleg alkalmazott, szabályozott hatóanyag-leadású rendszerek (mikrokapszulák, liposzómák, nanoszférák, micelláris aggregátumok stb).

A ciklodextrines formulációk egyszerűen előállíthatók, hatóanyag-leadásuk sajátos mechanizmusa és e folyamat kívánság szerinti szabályozhatósága újszerű alkalmazási lehetőségeket is nyitott, elsősorban a gyógyszeriparban. Ami a többnyire két-, olykor többkomponensű, nem kovalens szupra-molekulák, vagy molekula-együttesek felhasználhatóságát illeti, a gyógyszer-, élelmiszer-, kozmetikai- és háztartás-vegyipar számos, gyakorlatban már termékként megvalósult példával szolgál.

A ciklodextrin technológiai kutatás intenzitására jellemző, hogy még az elmúlt néhány évben is folyamatosan nőtt a ciklodextrinek alkalmazását leíró találmányok száma. 2001 és 2003 között 430 cég összesen 3560 találmányt jelentett be világviszonylatban. Jelenleg a ciklodextrin irodalom teljes anyaga kereken 26 000 publikált közlemény, találmány, konferenciaanyag stb. (*Cyclodextrin News adatbázisa, Cyclolab Kft. 2003.*)

A nemzetközi gyógyszerpiacon már harminc termékben található ciklodextrin, többnyire oldékonyságfokozó, stabilizáló, vagy egyszerre több feladatot is ellátó segédanyagként. A 2003-ban piacon levő ciklodextrinnel formulázott gyógyszerkészítmények listája az 1. Táblázatban található.

1. Táblázat A 2003-ban piacon levő ciklodextrin tartalmú gyógyszerek (Cyclolab Cyclodextrin News adatbázisa alapján)

hatóanyag/CD típus	terméknév	felhasználás	Bevitel	cég/ország
PGE ₂ /βCD	Prostarmon E	szülésindítás	Nyelvalatti tabletta	Ono, Japán
PGE ₁ /αCD 20 μg/amp.	Prostavasin Edex	érelzáródás erekciózavar	Intraartériás-kavernális injekció	Ono, Japán Schwarz, Németország
PGE ₁ /αCD 500 μg/amp.	Prostandin 500	vérnyomás csökkentő	Infúzió	Ono, Japán
OP-1206/γCD	Opalmon	Buerger betegség	Tabletta	Ono, Japán

Hatóanyag/CD típus	terméknév	felhasználás	bevitel	Cég/ország
Piroxicam/ β CD	Cicladol, Brexin	Gyulladásgátló, fájdalom csillapító	Tabletta, tasak és kúp	Masterpharma, Chiesi, Olaszország
fokhagyma olaj/ β CD	Xund, Tegra, Allidex, Garlessence	Arterioszklerózis ellen	Drazsé	Bipharm, Hermes, Németország, USA
Benexate/ β CD	Ulgut, Lonmiel	Gyomorfekély ellen	Kapszula	Teikoku, Japán, Shionogi, Japán.
Iodine/ β CD	Mena-Gargle	Fertőtlenítő	Öblítő oldat	Kyushin, Japán.
Dexamethasone, Glyteer/ β CD	Glymesason	Gyulladásgátló, fájdalom csillapító	Kenőcs	Fujinaga, Japán.
Nitroglycerin/ β CD	Nitropen	koronária tágító	Tabletta	Nippon K. Japán.
Cefotiam/ α CD	Pansporin T	Antibiotikum	Tabletta	Takeda, Japán.
Cephalosporin (ME 1207)/ β CD	Meiact	Antibiotikum	Tabletta	Meiji Seika, Japán.
Tiaprofenic acid/ β CD	Surgamyl	fájdalom csillapító	Tabletta	Roussel-Maestrelli, Olaszország
Diphenhydramin chlortheophylline+ β CD	Stada-Travel	Hányiger ellen	Rágó tabletta	Stada, Németország
Chlordiazepoxid/ β CD	Transillium	Nyugtató	Tabletta	Gador, Argentina.
Piroxicam/ β CD	Flogene	Gyulladásgátló, fájdalom csillapító	Szirup	Aché, Brazília
Hidrokortizon/HPCD	Dexacort	szájfertőtlenítő	Oldat	Izland
Itraconazole/HP β CD	Sporanox	antimikotikum	Oldat	Janssen, Belgium
Cloramphenicol/ methyl β CD	Clorocil	Antibiotikum	szemcsepp	Oftalder, Portugália
Cisapride/ β CD	Coordinax	Bélstimuláló	végbélkúp	Janssen, Belgium
Nimesulide/ β CD	Mesulid Fast	Gyulladásgátló, fájdalom csillapító	Sachet por	Novartis (LPB), Olaszország
Ziprasidone mesylate/ szulfobutil- β CD	Zeldox, Geodon	Skizofrénia ellen	i.m. injekció	Pfizer, USA
Nicotine/ β CD	Nicorette, Nicogum	Nikotinpótló	Tabletta és rágógumi	Pharmacia, Svédország, Pierre Fabre, Franciaország
Dextromethorphan/ β CD	Rynathisol	Köhögés ellen	Tabletta, szirup	Synthelabo, Olaszország
Cetirizine/ β CD	Cetirizin	Antiallergikum	Tabletta	Losan Pharma, Németország
Voriconazol/ szulfobutil- β CD	VFEND®	Antimikotikum	i.v. injekció	Pfizer, USA

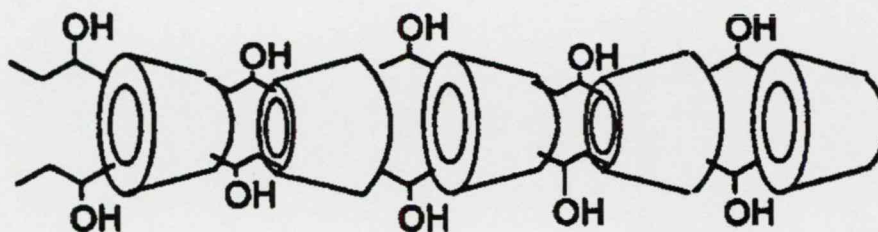
Hatóanyag/CD típus	terméknév	felhasználás	bevitel	Cég/ország
Mitomycin/HP β CD	MitoExtra	Gyulladásgátló,	Infúzió	Novartis, Svájc
Diclofenac Na/HP γ CD	Voltaren ophtha	Gyulladásgátló,	Szemcsepp	Novartis, Svájc
Omeprazol/ β CD	Omebeta	fekélyellenes	Tabletta	Betapharm, Németország
Tc-99 Teboroxime/HP γ CD	Cardiotec	Radio-diagnosztikum	i.v. injekció	Bracco, USA

A kozmetikai- és háztartásvegyiparban csak becsülni lehet azon termékek számát (tudomásom szerint több száz!), melyekben valamilyen ciklodextrin adalék található. Szinte minden jelentősebb kozmetikai cég (LOreal, Shiseido, Estée Lauder, Beiersdorf stb.) piacra hozott már ciklodextrinekkal javított sajátságú készítményeket. A Procter and Gamble egyedül több száz tonna ciklodextrint és ciklodextrin származékot használ a korszerű mosó-, textilápoló- és mosogatószerhez. Az óriáscég termékeit és eljárásait 116 szabadalommal védi, és fejlesztési intenzitására jellemző, hogy 2001 áprilisa óta 185 új találmányi bejelentést tett.

A papír- és textilipar az elmúlt néhány évben indult, főként Németországban, ahol cellulóz rostokra kötött, ciklodextrinekkal javított sajátságú textilipari termékek gyártása már megvalósult.

Egyes, különlegesen módosított ciklodextrinek pedig már a jövő anyagainak tekinthetők. A per-nitro- γ -ciklodextrinek rakétahajtó-anyagokként történő felhasználásának lehetőségét pl. a NASA laboratóriumaiban vizsgálják. (Rübner, A. és mtsai 10th. Intl. Cyclodextrin Symp. Ann Arbor, Michigan, 2000 May 21-24.)

A ciklodextrin polirotaxánok segítségével polimerizált, 1 nm-nél kisebb belső átmérőjű, lineáris molekuláris csövecskék (10. ábra) a molekuláris szintű memóriatárolás lehetőségét is felvetik. (Harada H. : Nature, 364. No.6437. 516-518. 1993)



10. ábra Ciklodextrinekből polimerizált lineáris nano-csővecske szerkezete

2. Célkitűzések

Munkásságom jelentős részét a ciklodextrinekkel megvalósítható molekuláris kapszulázás elméleti és gyakorlati vonatkozásainak tanulmányozása tette ki.

- Ciklodextrin alapú, alkalmazástechnológiai és terápiás jelentőségű, szabályozott hatóanyag-leadású rendszerek előállítását és vizsgálatát tűztem ki célul. Kutató-fejlesztő munkáim során a laboratóriumi eredmények gyakorlati megvalósíthatóságát igyekeztem szem előtt tartani.
- Célul tűztem ki a ciklodextrinek lehető legszélesebb gyakorlati alkalmazhatóságának felderítését. Ezért vizsgálataim felölelik a gyógyszerhatóanyagok, egyes élelmiszer komponensek (aromák, íz- és illatanyagok, színezékek), természetes lipidek és a növényvédőszer molekuláris kapszulázását, tehát ezek a vizsgálatok nemcsak egy bizonyos vendégmolekula-körre korlátozódnak.
- Vizsgálni kívántam az „üres” ciklodextrinek mint potenciális komplexképzők alkalmazásának lehetőségeit is. A ciklodextrinek önmagukban (vendégmolekula nélkül) történő alkalmazását a komplexképzésen alapuló in vivo detoxikálás, és a károsanyag-kibocsátás csökkentése szempontjából vizsgáltam.
- Céljaim között szerepelt a ciklodextrin technológia alkalmazási lehetőségeinek feltárása mellett azok határainak és korlátainak pontos megismerése is.

A kutatási téma sokoldalú jellegéből eredően teljes koherencia - a vendégmolekulák szintjén - sem kísérleti munkáim, sem a közleményeim témáinak vonatkozásában nem jelentkezik, de valamennyi publikált munkám a ciklodextrinekkel, azok alkalmazási lehetőségeivel foglalkozik. Így a koherenciát a gazdamolekulák, a ciklodextrinek jelentik.

Dolgozatom témája több tudományágat érintő, interdiszciplináris jellegű, átfogja a szénhidrátkémia, a gyógyszer-technológia és a környezeti kémia egyes területeit.

Számos jelentős tudományos felismerésünk – iparjogi okok miatt – sajnos csak később, vagy soha sem került nyilvánosságra, tudományos folyóiratokban publikálásra.

Emiatt hivatkozott publikációim között találmányok, illetve megadott szabadalmak is szerepelnek. Igaz, hogy ezeknek a "közleményeknek" nem számolható hatástényezője, de a nemzetközi szabadalmi újdonságvizsgálatok (international search reports) jelen színvonalát, iparjogi és anyagi felelősségvonzatát figyelembe véve, egy-egy találmány újdonságvizsgálata - tapasztalataim szerint - felér egy szigorúbb kézirat bíráló értékelő tevékenységével.

Találmányaink és szabadalmaink színvonalát és jelentőségét mutatja, hogy azok több mint 50 %-át hasznosították, és már két, piacon levő termék iparjogi védelmét is szolgálják.

3. A tudományos eredmények összefoglalása

3. 1. Példák a ciklodextrin technológia gyógyszeripari alkalmazására

Ciklodextrin-alapú, szabályozott hatóanyag-leadású és hatóanyagot célbajuttató rendszerek fejlesztésének lehetőségeit kutattuk. Száznál több gyógyszer hatóanyag/ciklodextrin zárványkomplexet állítottunk elő és írtuk le fizikai, kémiai és biofarmáciai sajátosságait. A ciklodextrinnel komplexált hatóanyagok orális, szemészeti, inhalációs és parenterális készítményekben történő alkalmazhatóságát tanulmányoztuk.

A gyógyszeripari kutatás-fejlesztés jelenleg három fő irányban halad:

- Új, korszerűbb, a korábbiaknál nagyobb hatékonyságú, kevesebb mellékhatással, újszerű hatásmechanizmussal rendelkező vegyületek keresése. Ez főként a gyógyszergyár-óriások működési területe (Egy eredeti hatóanyagból átlagosan 15 év alatt és 500-800 millió USD ráfordítással lesz piacra kerülő új termék). Ezt átlagosan 20 évig szabadalom védi.
- Generikus, azaz szabadalommal már nem védett, ismert hatóanyagok és formulációk szigorúan bioegyenértékű "másolatainak" készítése. Ezt a területet a gyógyszeripari „másolóműhelyek” kevés innovációt igénylő, de a piacra gyorsan reagáló, iparjogilag és engedélyeztetés szempontjából jól felkészült cégei képviselik.
- A harmadik, ma még a fenténél kevésbé elterjedt, gyógyszerkutatási- és fejlesztési irány az úgynevezett „szupergenerikumok” vagy javított

tulajdonságú hatóanyagok (“improved chemical entities”) kidolgozása és gyógyszerre fejlesztése. Ilyenkor, a régóta ismert fizikai, kémiai tulajdonságú és farmakológiájú, jól bevált hatóanyagok új gyógyszerformában való megjelenítése történik, úgy, hogy a végtermék sok tekintetben nem azonos és nem is bioegyenértékű a piacon levő eredeti termékekkel, formulációkkal. E korszerű gyógyszerívő- és célbajuttató formulációkkal kapcsolatos gyógyszeripari ipari forgalmat 2004 évben 70 milliárd dollárra becsülik. (SCRIP 2003.2/11)

Az elmúlt 28 évben – gyógyszeripari környezetben - a hatóanyagok ciklodextrinnek történő formulázásán, hatékonyabb gyógyszer-hordozó- és célbajuttató rendszerek kifejlesztésén dolgozva, munkatársaimmal e harmadik úton haladók közé álltunk. Egyszerűen megvalósítható, gazdaságos eljárásokat dolgoztunk ki a ciklodextrin és gyógyszer-hatóanyagok zárványkomplexeinek, és többkomponensű szupramolekuláris rendszerek előállítására, ezek vizsgálatára. Nemcsak a hatóanyagok molekuláris szintű kapszulázását, és az ebből eredő előnyöket (olykor hátrányokat), hanem a zárványkomplexekben a ciklodextrin pusztán jelenlétéből fakadó másodlagos következményeket is igyekeztünk feltárni.

Száznál is több gyógyszer-hatóanyag, illetve hatóanyag-jelölt ciklodextrin zárványkomplexének előállítási technológiáját dolgoztuk ki és írtuk le jellemző fizikai, kémiai és biofarmáciai sajátosságait. Vizsgáltuk a ciklodextrinbe zárt hatóanyagok *in vitro* felszabadulásának sajátosságait, biológiai hatékonyságuk alakulását a hagyományos módon formulázott hatóanyagokéval összevetve.

Szabályszerűségeket állapítottunk meg a ciklodextrin-alapú, szabályozott hatóanyag-leadású rendszerek hatóanyag-leadásának mechanizmusával, és e folyamat befolyásolhatóságával kapcsolatban. Számos hatóanyag ciklodextrin zárványkomplexe példáján igazoltuk, hogy azok főként orális, de egyéb gyógyszer-beviteli úton is fokozott biológiai hatékonyságot mutatnak. A molekulárisan kapszulázott hatóanyagok alkalmazásakor nemcsak a hatóanyagok magasabb plazmaszintje, hanem a kívánt farmakológiai hatás fokozódása is észlelhető. A komplexképzés következményeként a megnövekedett biológiai hasznosulás komplexkémiai és biokémiai hátterét is igyekeztünk feltárni. Összefüggést találtunk a hatóanyag/ciklodextrin zárványkomplexek asszociációs (komplex stabilitási) állandója, a vizsgálati rendszerek aktuális víztartalma (hígítás) és az adott közegben

jelenlevő egyéb anyagok (versengő komplexképző vendégmolekulák) valamint a hatóanyag megnövekedett biológiai hasznosulása között.

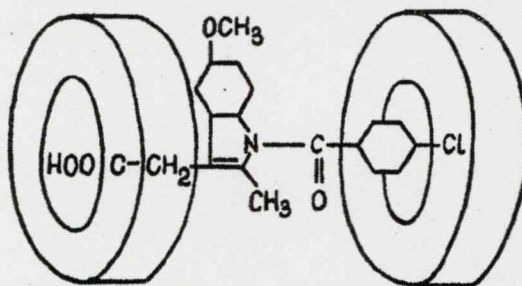
3.1.1. Ciklodextrinek az orális gyógyszerformulációkban

Az indometacin/ β -ciklodextrin komplex

A nem-szteroid gyulladásgátlók közül legrészletesebben az indometacin ciklodextrin komplex előállításának körülményeit és a képződött komplex sajátságait tanulmányoztuk. (1)

A komplexképzést az indometacin és a ciklodextrin közös oldatából kristályosítással végeztük. Az indometacin acetonos oldatát reagáltattuk a β -ciklodextrin telített vizes oldatával, intenzív keverés mellett, 60 °C-on. A reakcióelegy lassú hűtésével az indometacin zárványkomplex kristályosítással jó hozammal (85%) volt nyerhető.

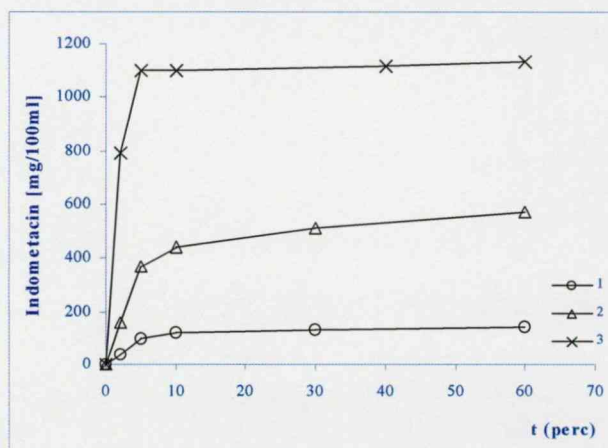
A képződött zárványkomplex összetételét spektrofotometriásan határoztuk meg. Megállapítottuk, hogy a nem szteroid gyulladásgátló a ciklodextrinnel 1:2 Indometacin: β -ciklodextrin molarányú komplexet képez, melynek sematikus szerkezete a 11. ábrán látható.



11. ábra Az 1:2 molarányú indometacin- β CD zárványkomplex sematikus szerkezete

Az indometacin zárványkomplex-képződését - szilárd fázisban - (Röntgenpordiffrakciós és termoanalitikai módszerekkel) nem sikerült egyértelműen igazolni. A szilárd formulációnak vízben történő oldása után azonban az oldat-analitikai (diffúziós, cirkuláris dikroizmus, NMR) vizsgálatok azt mutatták, hogy az indometacin oldatban valóban a β -ciklodextrin üregében helyezkedik el.

Cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával kimutatható, hogy az akirális indometacin molekula a β -ciklodextrin komplex vizes oldatában határozott optikai aktivitást mutat. A szilárd indometacin- β -ciklodextrin komplex *in vitro* kioldódási sajátosságai is a hatóanyag molekuláris diszperzitására utaltak. (12. ábra)



12. ábra Az indometacin (1) az indometacin+ β CD keverék (2) és az indometacin/ β CD komplex (3) *in vitro* oldódássebessége pH 7 pufferben.

Az *in vitro* oldékonyság-, diffúzió- és kioldódási eredmények szoros korrelációt mutattak az *in vivo* állatkísérletek vérszint-eredményeivel. (13. ábra).

232 L. Szenté

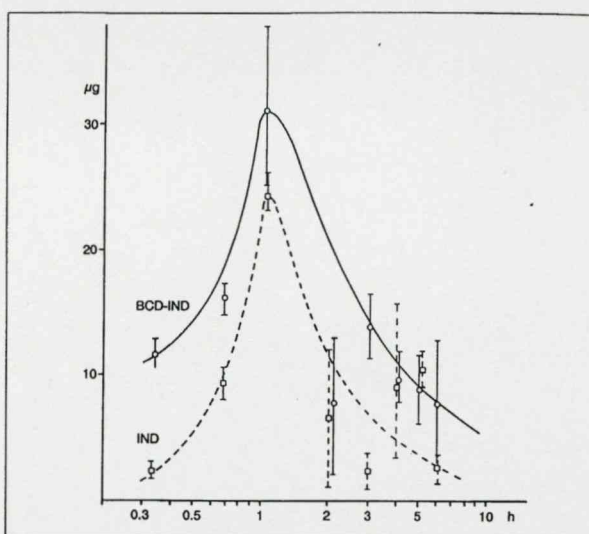
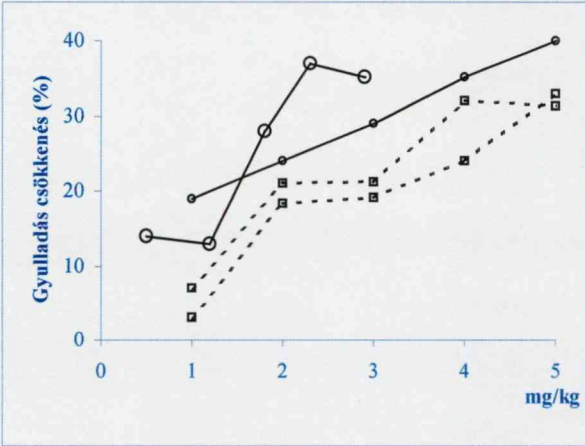


Fig. 6.b: Blood level of free and complexed Indomethacin after *per os* application in rats

13. ábra A szabad (IND) és a β -ciklodextrinnel komplexált (BCD-IND) indometacin vérszint görbéje orális adagolás után patkányokon. (2)

Ezek szerint az indometacin β -ciklodextrinnel történő komplexálásával olyan szilárd formuláció állítható elő, melynek orális adagolása – állatkísérletekben - számottevően növelte a hatóanyag felszívódását biológiai hozzáférhetőségét. A ciklodextrinnel történő komplexálódás miatt kialakult magasabb indometacin vérszint következményeként nagyobb gyulladásgátló hatás is megfigyelhető volt. (14. ábra)



14. ábra Az indometacin (szaggatott vonal) és indometacin/ β -ciklodextrin komplex (folyamatos vonal) gyulladáscsökkentő hatása két független állatkísérletben.

A magasabb vérszint és megnövekedett biológiai hatás mellett - első hallásra paradoxnak tűnő módon - csökkent az indometacin közismert gyomorirritáló és fekély-provokáló mellékhatása. A 28 napos hagyományos (IND)- illetve komplexált indometacin kezelés (IND/ β CD) mellékhatását patkányokon a 2. Táblázat mutatja.

2. Táblázat A 28 napos, szabad (IND), illetve komplexált indometacin hatóanyaggal (IND/ β CD) történt per os kezelés mellékhatása patkányokon

Dózis	Kialakult fekély		Gyomor erózió	
	Hím	Nőstény	Hím	Nőstény
Kontrol	0/10	0/10	0/10	0/10
40.8mg*/kg/nap IND/ β CD	2/10	1/10	4/10	4/10
5mg/kg/nap IND	7/10	6/10	9/10	7/10

*40.8 mg Indometacin/ β CD complexben 5 mg indometacin van

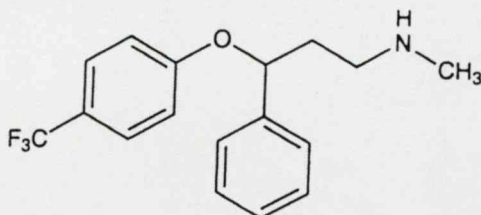
A β -ciklodextrinnel formulázott indometacin kezelés a gyomorirritáció (fekélyek, nyálkahártya erózió) szempontjából számottevően kevesebb mellékhatással járt, mint a nem komplexált hatóanyag.

E jelenség pontos magyarázata még hiányzik, és az irodalomban sem találtunk erre vonatkozó utalást. Feltételezhető, hogy a gyomorirritációban és fekély képződésben nemcsak a gyulladásgátló szer COX-I és COX-II receptor iránti specificitás megváltozása játszhat szerepet, hanem az is, hogy kontakt hatása a gyomor nyálkahártyán a zárványkomplexben kevésbé érvényesül. (1, 2)

A Fluoxetin/ γ -ciklodextrin komplex

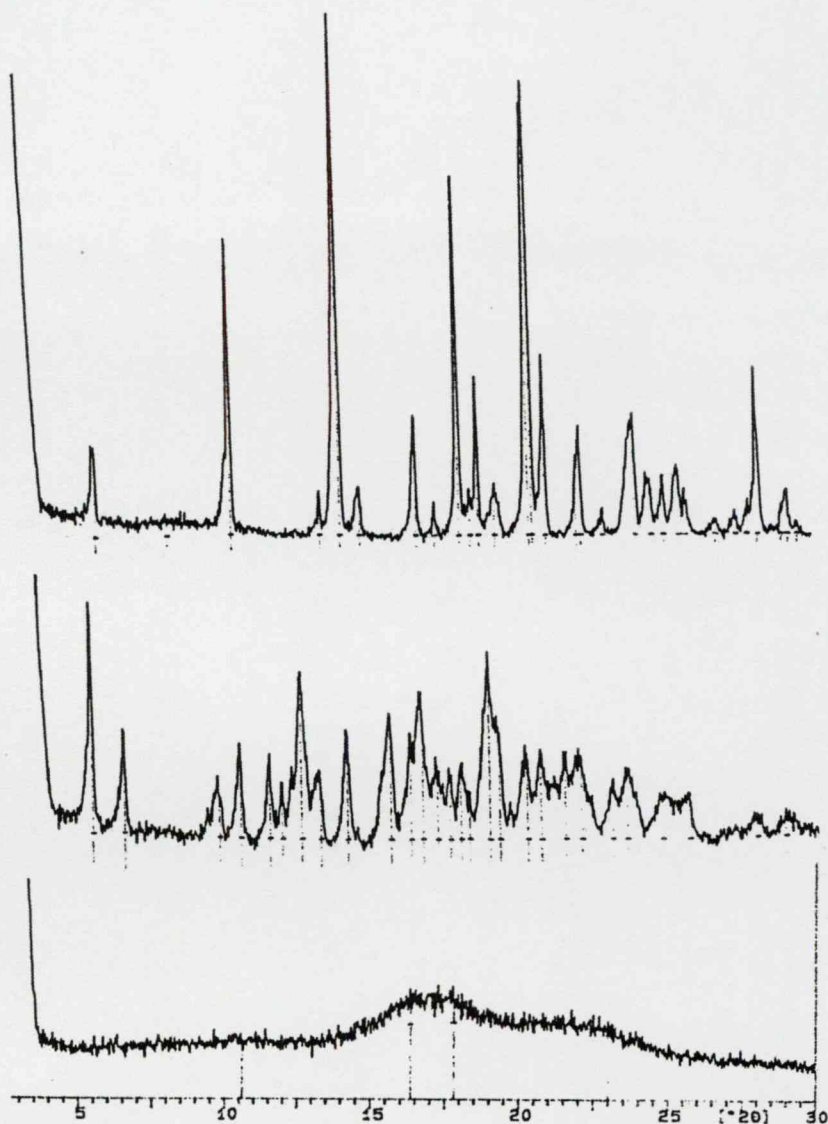
A ciklodextrin alapú orális gyógyszerformulációk további előnyeit a központi idegrendszerre ható, szorongásgátló Fluoxetin hatóanyag/ γ -ciklodextrin zárványkomplexe szemléletesen mutatja be. A vegyület az utóbbi évek egyik legnagyobb üzleti sikerét hozó, a szerotonin-felvételt befolyásoló, szorongásgátló gyógyszer hatóanyaga. Az Eli Lilly vállalat, Prozac® néven védett termékét – még generikussá válása előtt - optikailag aktív formájában újra piacra vitte, s ezzel az élettartam-meghosszabbítás egy viszonylag költséges változatát választotta. Az alábbiakban példaként egy egyszerűbb, és kevésbé drága megoldást láthatunk: a ciklodextrinnel javított Fluoxetin formuláció kidolgozását. Igaz, hogy ezúttal sem “spórolható meg” a klinikai vizsgálat, de a fejlesztés ideje és költsége töredéke az optikailag aktív verzióból fejlesztett új termékének. (3)

A hatóanyag, a \pm N-metil- γ -trifluor-metil-fenoxi-benzol-propánamin vízben aránylag jól oldódó hidroklorid sója (15. ábra), melynek γ -ciklodextrines komplexálásával kismértékű oldékonyság fokozódást és relative kis asszociációs állandójú complex (K_{ass} : $80M^{-1}$) képződését tapasztaltuk.



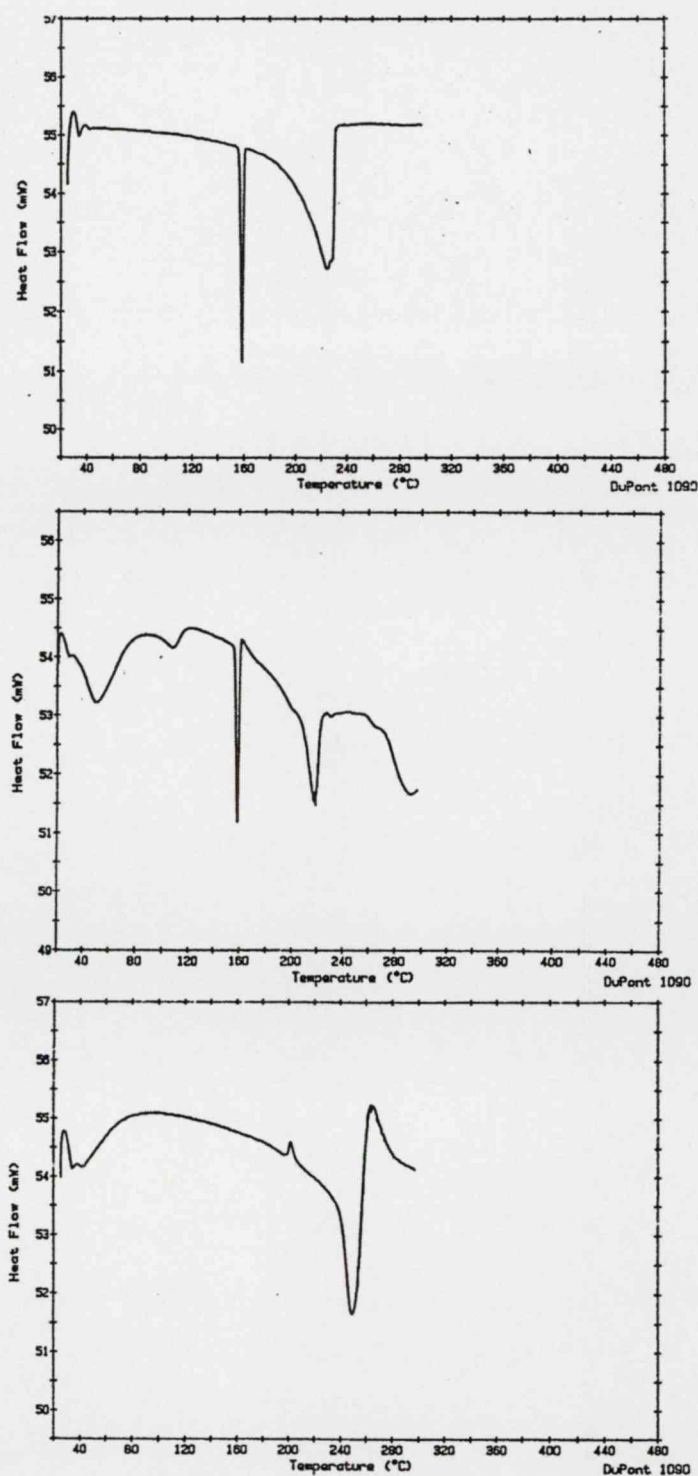
15. ábra. A fluoxetin hatóanyag

A közös oldatból, szerves oldószer alkalmazása nélkül (vízben) előállított Fluoxetin/ γ -ciklodextrin komplex szilárd fázisban igen alacsony kristályossági fokot mutat. A röntgen pordiffrakciós vizsgálat egy amorf új szilárd fázis létrejöttére utalt, mely a komplexképződés indirekt bizonyítékának tekinthető. (16. ábra)



16. ábra A Fluoxetin, a hatóanyag(felső kép) a γ -ciklodextrines keverék (középső kép) és a Fluoxetin/ γ -CD komplex (alsó kép) pordiffraktogramja.

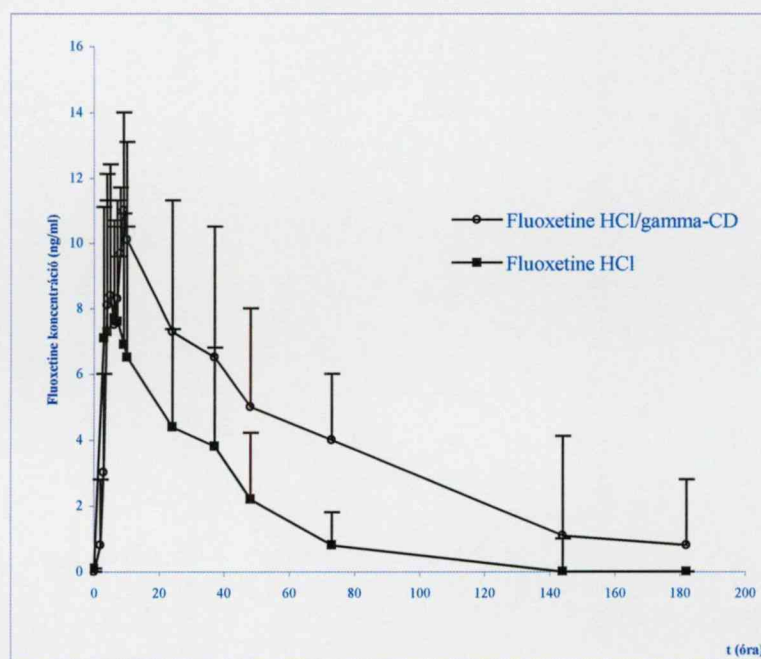
A szilárd Fluoxetin- γ -ciklodextrin komplexben levő hatóanyag molekuláris diszperzitására a termikus elemzés (DSC) adataiból következtethetünk. (17.ábra)



17. ábra A Fluoxetin, a hatóanyag (felső görbe), a γ -ciklodextrin keverék (középső görbe) és a Fluoxetin/ γ -ciklodextrin komplex (alsó görbe) termogrammjai.

A kristályos hatóanyagra jellemző - az olvadási folyamattal együttjáró - entalpia változás (155 °C) a szabad hatóanyag és γ -ciklodextrinnel készült mechanikus keverék esetében jól látható. Ez a hőáram a Fluoxetin/ γ -ciklodextrin zárványkomplex DSC termogrammján nem jelentkezik, ami a hatóanyag molekuláris diszperzitását jelentheti. (17.ábra alsó görbe)

Ebből a Fluoxetin/ γ -ciklodextrin zárványkomplexből, mint pre-formulációból fejlesztett orális készítmény összehasonlító (a piacon levő Prozac® termékkel) farmakokinetikai és hatástani vizsgálata mind állat, mind humán kísérletekben bizonyította a hatóanyag biológiai hozzáférhetőségének és szorongásgátló hatásának fokozódását. A Fluoxetin megváltozott farmakokinetikai jellemzői és megnövekedett farmakológiai hatása részben a hatóanyag molekuláris diszperzitása, részben a komplex disszociációt követő a “szabad” ciklodextrin membrán-permeációt kedvezően befolyásoló hatásának együttes következménye. (18.ábra)



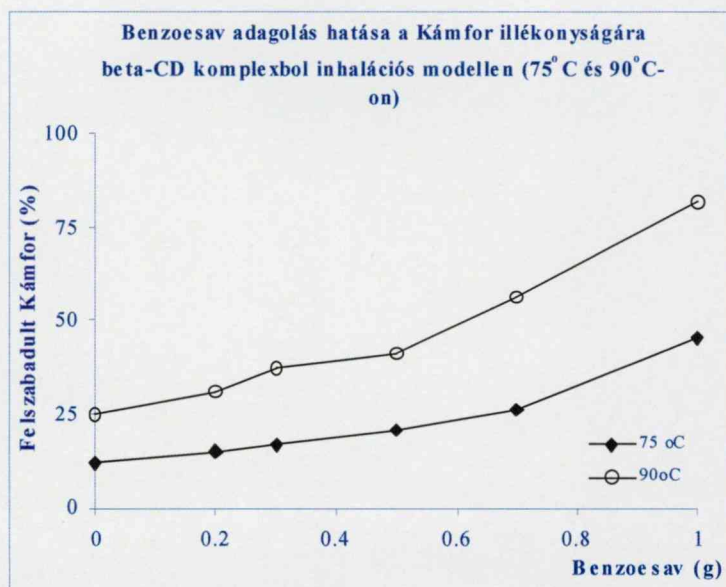
18. ábra A Fluoxetin vérszint alakulása azonos dózisé, “szabad” hatóanyagot (Prozac®) és a Fluoxetin/ γ -ciklodextrin komplexet tartalmazó formulációk orális adása után humán önkénteseken

Mind az indometacin, mind a fluoxetin hatóanyagok ciklodextrin komplexeivel kapcsolatban bemutatott farmakokinetikai és hatástani eredmények arra utalnak, hogy

a ciklodextrin alapú orális gyógyszerformulációk - az esetek többségében - nem használhatók fel generikus készítmények fejlesztésében. Az orálisan adott gyógyszer ciklodextrin komplexek rendszerint nem bio-egyenértékűek az eredeti gyógyszerformulációkkal. Ezt a fenti két hatóanyagon kívül más típusú gyógyszermolekulák komplexeinél is megfigyeltük. Más szóval, a ciklodextrinek farmakokinetikai szempontból szinte sosem maradnak inerteek: vagy a hatóanyaggal való komplexképzés miatt, vagy pusztán jelenték membrán permeációt befolyásoló hatása miatt, vagy e két hatás eredőjeként mindig módosítják a gyógyszer-hatóanyagok felszívódását. Ennek következtében egy ciklodextrinnel formulázott hatóanyag fejlesztésekor az új klinikai vizsgálatok elvégzése - orális készítmény - esetében elkerülhetetlen, ami a fejlesztési költségeket jelentősen megnöveli. Ez a legfőbb oka annak, hogy a ciklodextrin/gyógyszerkomplexeiket a generikus fejlesztésben nem, vagy csak ritkán használják fel.

3. 1. 2. Ciklodextrinek alkalmazása inhalációs készítményekben

A ciklodextrinbe zárt természetes illóolajok és szintetikus illóanyagok inhalációs készítményekben történő alkalmazását azzal a céllal tanulmányoztuk, hogy a lipofil, vízben nem nedvesedő olajokból hidrophil, stabilis, jól nedvesedő porformulációkhoz jussunk. A Diapulmon® injekcióval azonos összetételű, de a mentolt, kámfort és eukaliptusz olajat β -ciklodextrinnel komplexált formában tartalmazó készítményt állítottunk elő. A komplexekből képzett keverék átlagosan 10% illó anyagot tartalmazott és vízben jól nedvesedett. Az inhaláció tesztben azonban az illóanyag szabaddá válása lassú, időben elhúzódó volt, ami a készítmény használhatóságát rontotta. A jelenség hátterében az illóanyagok β -ciklodextrin komplexeinek nagy stabilitása állt. (pl. a mentol/ β CD komplex stabilitási állandója 3850 M^{-1} , Ikeda, Y. és mtsai *Yakugaku Zasshi*, 101. 2. 83-88, 1982.) A gyorsabb és nagyobb mértékű hatóanyag-leadást egy, az illóanyagokénál nagyobb stabilitású komplexet képző és nem illékony adalékanyaggal biztosítottuk. A szóbaeső ilyen vendégmolekulakörből a benzoésav és származékai bizonyultak alkalmas adalékoknak. A 10 g illóanyag ciklodextrin komplexhez 1 g versengő komplexképző benzoésavat adva az inhalálható illóanyag mennyiségét több, mint 100%-kal lehetett növelni. (19. ábra)



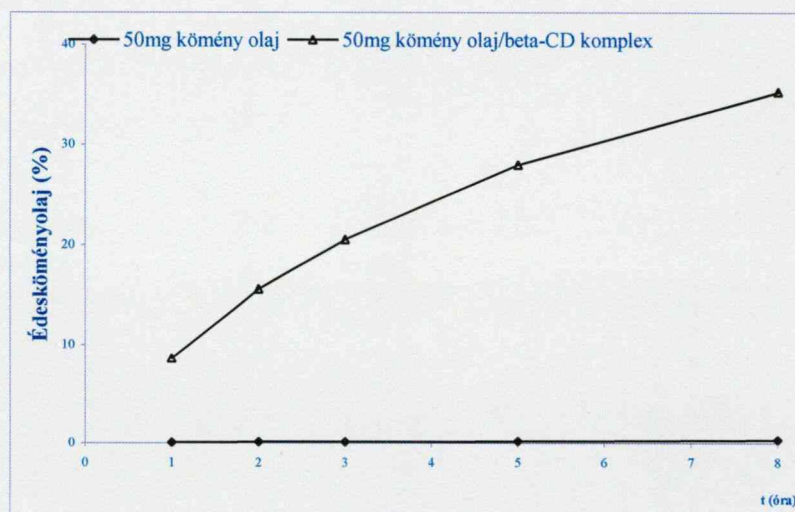
19. ábra Benzoésav adagolás hatása a β -ciklodextrinnel komplexált kámfor illékonyására inhalációs modellen (75 és 90 °C vízben)

A fenti példa szemléletesen mutatja, hogy a túlzottan nagy stabilitási állandójú zárványkomplexek disszociációja a ciklodextrin üregért hatékonyan versengő potenciális vendégmolekulák alkalmazásával fokozható. Egy ilyen szilárd, poralakú Diapulmon®-analóg inhalációs készítmény fejlesztésének eredménye a forró vízben illóanyagát hosszú időn át folyamatosan leadó készítmény, a hazai piacon is egy ideig jelen levő Inhaletta® tabletta. (4)

3. 1.3. Ciklodextrinekkal javított kúpformulációk

A gyermekgyógyászati broncholitikus kúpkészítményekben a hatóanyagok (növényi illóolajok) és a kúp alapanyagok közötti összeférhetetlenséget sikerült ciklodextrin komplexképzéssel csökkenteni. A β -ciklodextrinnel molekulárisan kapszulázott illóolajok alkalmazásával mind a lipofil, mind a hidrofil jellegű kúp mátrixok mechanikai-fizikai sajátságai (olvadás, szilárdság) számottevően javultak. A ciklodextrinnel komplexált természetes hatóanyagok a kúpokban fizikai (illékonyság, migráció) és kémiai (oxidáció, izomerizáció) értelemben is stabilizálódtak. A ciklodextrinnel javított termékekben tárolás során jelentkező illóolaj-vándorlás, illékonyság és kémiai bomlás számottevően lecsökkent. (5) A stabilitási, eltarthatósági okok miatt csak magisztrális készítményként ismert illóolajos kúpformulációkat a ciklodextrin technológia segítségével elvileg gyógyszergyári

termékké lehetne fejleszteni. A fenti gyógyszer technológiai előnyök mellett a molekulárisan kapszulázott hatóanyagokat tartalmazó kúpokból a lipofil illóolajok *in vitro* kioldódási és diffúziós tulajdonságai is javultak. (20. ábra)

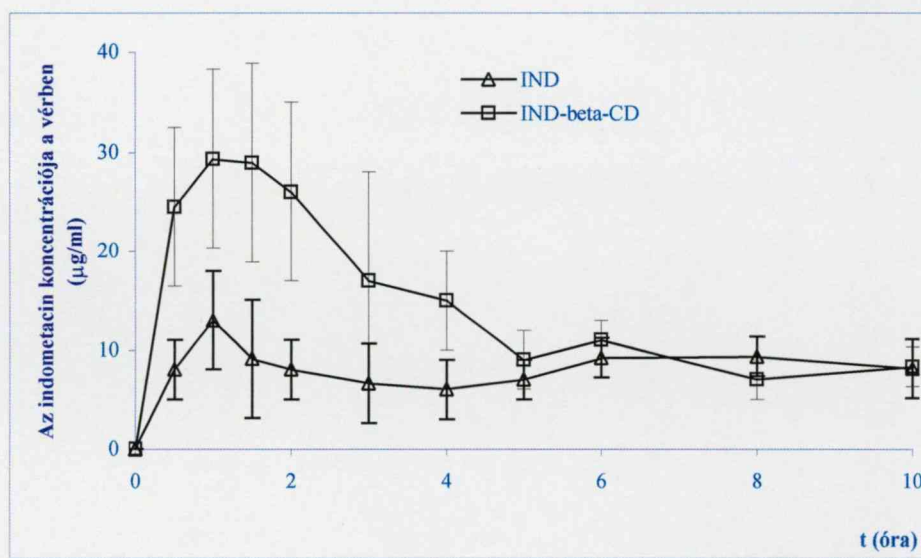


20. ábra Az édesköményolaj és β -ciklodextrin komplexének *in vitro* membrán diffúziója Adeps solidus kúpalapanyag mellől.

Kimutattuk, hogy a rektálisan alkalmazott mentol/ β -ciklodextrin komplexből a mentol hamarabb és számottevően nagyobb koncentrációban jelent meg a kilélegzett levegőben, azaz szívódott fel, mint a hagyományos kúpformában alkalmazott hatóanyag. Nemcsak természetes illóanyagok, hanem a az indometacin példáján is igazoltuk, hogy a molekuláris kapszulázással járó “szokásos” előnyök egy ilyen speciális összetételben, nagy moláris feleslegben jelen lévő kompetitív komplexképzők (pl Adeps solidus kúp matrix esetén zsírsavak) mellett is érvényesülnek. A lipofil kúpalapanyagból készült szabad- és ciklodextrin komplexbe vitt indometacint tartalmazó kúpok fizikai, kémiai és bio-hasznosulási szempontból megtartották a ciklodextrines formulációktól általában elvárható előnyöket. (21. ábra)

Megállapítottuk, hogy a hidrofíl kúpalapanyagok (pl. poli-oxietén-típusú) esetében a kúpalapanyag kevésbé zavarja a hatóanyag/ciklodextrin komplex egyensúlyt, így a komplexképzés hatása még markánsabban jelentkezik. Az apoláris, zsíros kúpalapanyagok mellett, a komplexképzés nyújtotta előnyök a nagy feleslegeben jelenlevő, kompetícióra hajlamos zsírok jelenlétében kisebb mértékben mutatkoznak.

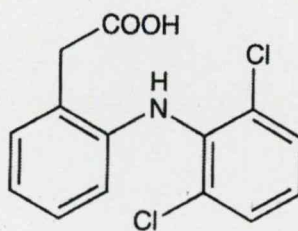
(6)



21. ábra Azonos mennyiségű hatóanyagot tartalmazó szabad (IND) és β -ciklodextrinnel komplexált indometacin (IND-betaCD) vérszintje rektális alkalmazás után patkányokon.

3. 1.4. Ciklodextrinekkal javított szemészeti formulációk

A ciklodextrinek összetettebb gyógyszerformulációkban - szerencsés esetben - egyszerre több funkciót is betöltő segédanyagokként is viselkedhetnek. Ezt a jelenséget munkáink során több esetben tapasztaltuk, és egy nem-szteroid gyulladásgátló hatóanyagot tartalmazó szemészeti készítmény kifejlesztése során alkalmaztuk is. A 2-hidroxi-propil- γ -ciklodextrinnel formulázott Diclofenac hatóanyagot (22. ábra) tartalmazó szemcsepp esetében a hatóanyag és egyéb, a szemcseppben szükségszerűen előforduló adalékanyagok (tartósítószer, pufferalkotók, izotonizáló anyagok stb.) közötti összeférhetetlenséget sikerült a ciklodextrin származék segítségével kiküszöbölnünk.



22.ábra A diclofenac hatóanyag szerkezete

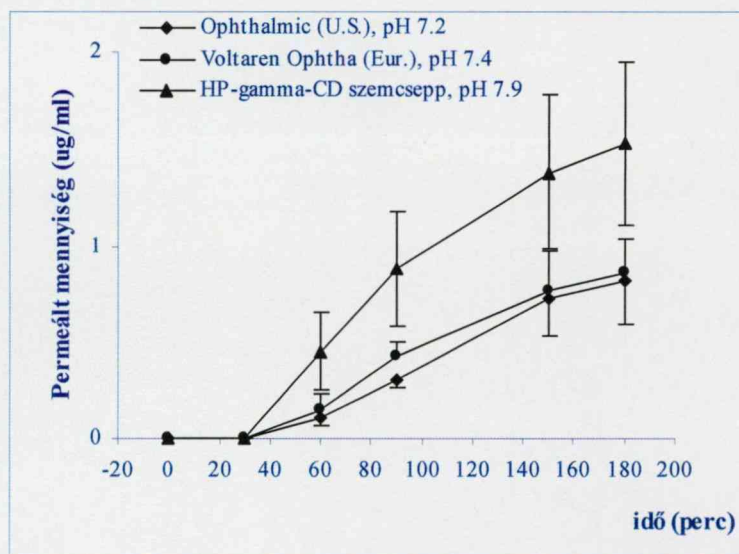
A végső szemcsepp összetételét 1.0 és 0.5 mg/mL koncentrációjú diclofenac hatóanyaggal a 3. táblázat mutatja be. Ebből a felsorolásból látható, hogy sok, potenciális vendégmolekulaként is szóbajöhető segédanyag szerepel a készítményben. Ezek jelenlétében kellett fenntartani a diclofenac és a hidroxipropil- γ -ciklodextrin közötti komplex egyensúlyt olyan mértékben, hogy a hatóanyag 2 éves tárolás során sem szobahőmérsékleten, sem alacsony (4 °C) hőmérsékleten ne kristályosodjon az oldatból.

3. Táblázat A ciklodextrin alapú, 1 és 0.5 mg/mL diclofenac tartalmú szemcsepp összetétele

Alkotórész	Mennyiség	
	1.00 mg	0.5 mg
Diclofenac nátriumsó	1.00 mg	0.5 mg
Tyloxapol (polimer)	1.00 mg	1.00 mg
tromethamin (puffer)	1.00 mg	1.00 mg
Propilén-glikol (izotonizáló)	19.0 mg	19.00 mg
hidroxipropil- γ -ciklodextrin	20.0 mg	20.0 mg
di-nátrium-edetát	1.00 mg	1.00 mg
benzalkonium-klorid (tartósítószer)	0.05 mg	0.05 mg
sósav 1N	qs	qs
injekciós víz ad	1.00 ml	1.00 ml
pH	7.96	7.98
ozmolalitás (mOsmol)	305	303

A ciklodextrin származék által biztosított formulációs-technológiai előny mellett a hatóanyag kémiai stabilitásának fokozódását is tapasztaltuk, ami a szemcsepp eltarthatósági idejének további növekedését eredményezte.

A hidroxipropil- γ -ciklodextrin és a hatóanyag közötti komplexképzés miatt megnőtt a diclofenac hatóanyag célszervi tartózkodási ideje, és fokozódott a szaruhártyán keresztül történő permeációja is. (23. ábra)



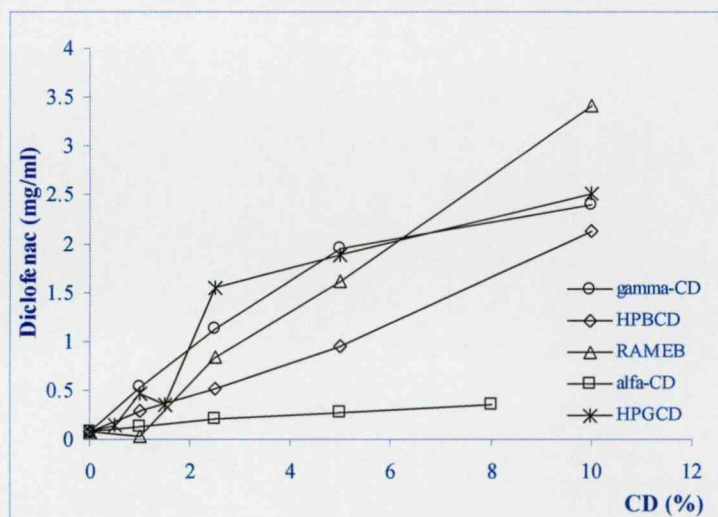
23. ábra Az amerikai és európai piacon levő, valamint a hidroxipropil- γ -ciklodextrinnel fejlesztett diclofenac szemcseppek *in vitro* permeációja izolált sertés szaruhártyán

A megnövekedett hatóanyag-permeáció háttérében a diclofenac molekuláris diszperzitása mellett, a ciklodextrin-származék és korneafelszín egyes alkotói közötti reverzibilis kölcsönhatás is szerepet játszhat. A hidroxipropil- γ -ciklodextrinnel formulázott Diclofenac szemcsepp a fenti előnyök mellett kevesebb mellékhatást mutatott. Az új formuláció szemet irritáló hatása lényegesen kisebb volt, mint a forgalomban levő analóg készítményeké. (7)

Miért választottuk a hidroxipropil- γ -ciklodextrint?

Felmerülhet a kérdés, hogy miért éppen a hidroxipropil- γ -ciklodextrin az optimális gazdamolekula egy diclofenac szemcseppben, hiszen az irodalomban számos diclofenac tartalmú szemcseppet írtak le és szabadalmaztattak, ahol β -ciklodextrinnel, hidroxipropil- β -ciklodextrinnel és natív γ -ciklodextrinnel történt a hatóanyag komplexálása. (Takeuchi, Y. EP 807434. 1997, Wakamoto, JP. 58174310)

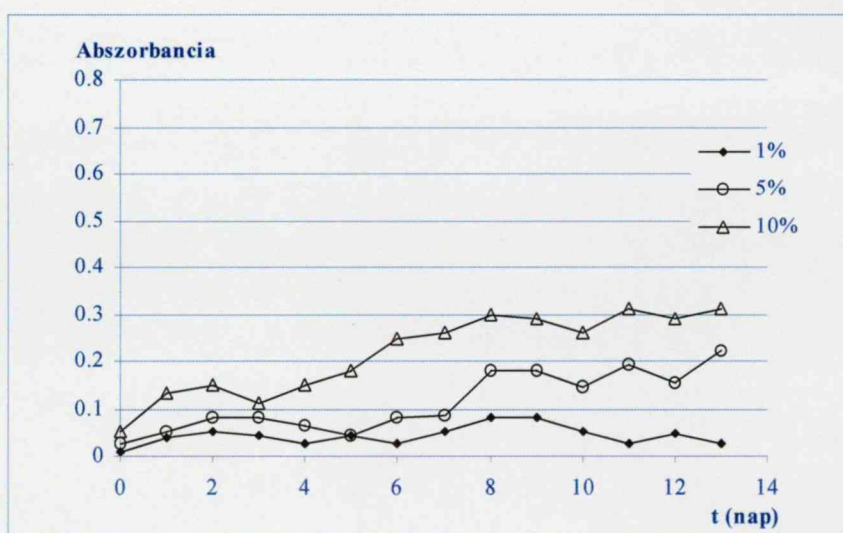
A ciklodextrinnel javított szemcsepp ciklodextrin komponensének kiválasztásához az a váratlan felismerésünk vezetett, melyszerint egyes natív ciklodextrinek vizes oldatának optikailag tisztasága nem marad változatlan. Az idő múlásával opálosság, majd csapadék képződés jelentkezik. A ciklodextrin kémiában alapismeretnek számít, hogy a kémiaailag módosítatlan ciklodextrinek közül az α - és a γ -ciklodextrin kiemelkedően jól oldódnak vízben. (Az α -ciklodextrinből 14.5 g, a γ -ciklodextrinből 23 g oldódik 100 mL vízben 25 °C-on.) Érdekes módon azonban korábban senki (mi sem) nem vizsgálta meg, hogy e ciklodextrinek vizes oldatai milyen stabilisak fizikai értelemben, azaz, pl. adott koncentrációban meddig maradnak optikailag tiszták. Eredetileg, a diclofenac hatóanyaghoz oldékonysági izoterma adatok (24.ábra) és a konzerválószerrel történő kölcsönhatás kizárása okán a kémiaailag módosítatlan γ -ciklodextrint választottam. A vízben jól oldódó, natív ciklodextrinek közül éppen a γ -ciklodextrin bizonyult a leghatékonyabb oldékonyságfokozó adalékknak. A megcélzott diclofenac koncentrációt semlegeshez közeli oldat pH-n már néhány %-os koncentrációban biztosította, és a tartósítószer sem komplexálta. Ismert volt továbbá, hogy a γ -ciklodextrint a szem még nagyobb mennyiségben is jól tűri.



24. ábra A diclofenac-nátrium oldékonysági izotermája pH 7.5 pufferben különféle ciklodextrinek jelenlétében

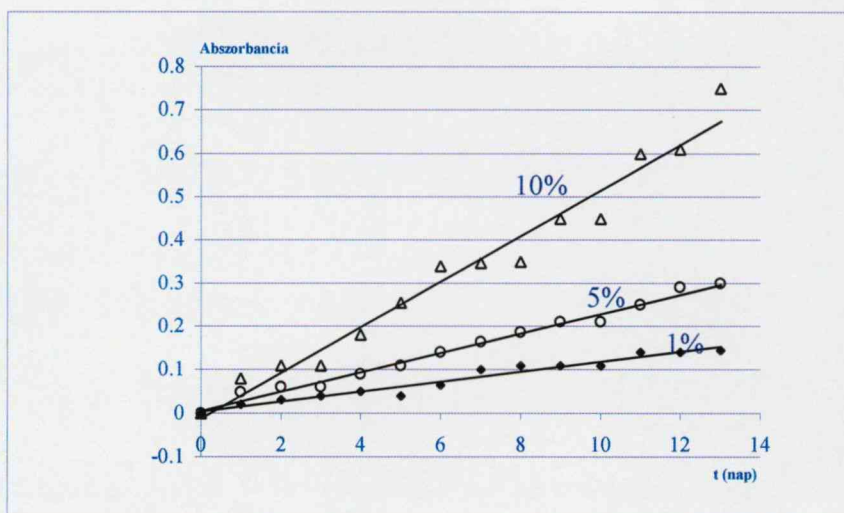
A γ -ciklodextrinnel készített vizes diclofenac oldatok azonban nem bizonyultak fizikailag stabilisnak, néhány napos tárolás során már szobahőmérsékleten is opálossá váltak. Vizsgálataink kizárták a hatóanyag és a γ -ciklodextrin közötti olyan bonyolultabb sztöchiometriájú zárványkomplex képződését, amely az oldat tisztaság

változásáért lenne felelős (pl. kristályos komplex képződése). Kiderült, hogy a vizes γ -ciklodextrin oldat önmagában sem marad optikailag tiszta, melynek oka a γ -ciklodextrin monomer egységek vizes oldatban –már kis koncentrációban is fellépő– aggregációja. (8) A γ -ciklodextrin különböző koncentrációjú vizes oldatainak optikai tisztaságát fotometriásan követve megállapítottam, hogy azok már szoba hőmérsékleten is 1-2-hét alatt opalizációt mutatnak. (25. ábra)



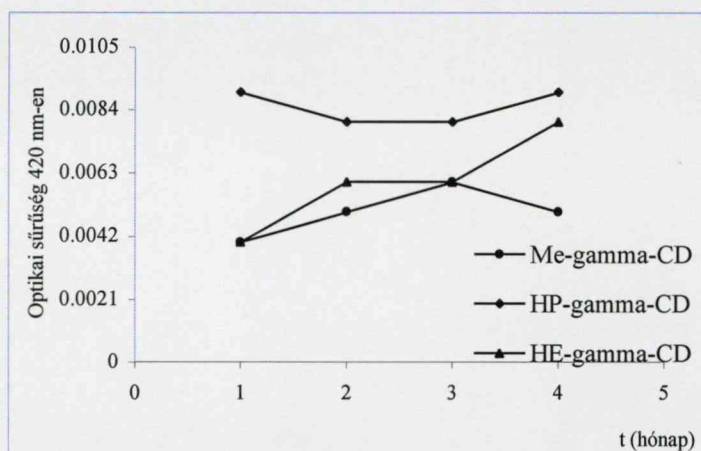
25. ábra Az 1, 5, és 10 %-os vizes γ -ciklodextrin oldatok optikai tisztaságának változása tárolás során (25⁰C).

Feltételeztem, majd kísérletileg igazoltam, hogy a γ -ciklodextrin aggregátumok közötti kölcsönhatást intermolekuláris hidrogén hidak biztosítják. A hidrogén hidak γ -ciklodextrin aggregációjában betöltött meghatározó szerepét később, tőlünk független, elméleti-kémiai és molekula-dinamikai úton is igazolták. (Bonnet, P., Jaime, C. és Moron-Allory L. *J. Org. Chem.* 67. 8602-8609. 2002.) Az aggregált és monomer formák oldatbani dinamikus egyensúlyára utal az a megfigyelés, miszerint a vizes oldatok opaleszcenciája membránszűréssel csak rövid időre szüntethető meg. Minél többször szűrjük a vizes γ -ciklodextrin oldatokat, annál gyorsabb ütemben és nagyobb mértékben jelentkezik az oldatok zavarosodása (26. ábra).



26. ábra Membránon szűrt 1, 5, és 10 %-os vizes γ -ciklodextrin oldatok optikai tisztasága 25 °C -os tárolás során.

A vízszerkezetet módosító és a hidrogénhidakat romboló anyagok (KSCN, karbamid, lúg stb) adagolása a vizes γ -ciklodextrin oldatok tökéletes optikai tisztaságát biztosította. A jelenség hátterének tisztázása gyakorlati fontosságú a γ -ciklodextrin tartalmú vizes injekciós és szemészeti készítmények tervezésénél, ahol a tökéletes oldattisztaság a formulációkkal szemben alapkövetelmény. Bizonyítottam, hogy a γ -ciklodextrin metilezett- és hidroxilalkilezett származékai nagy koncentrációban sem mutatnak aggregációt vizes oldatban. (27. ábra)



27. ábra Metilezett (Me-gammaCD) hidroxipropilezett (HP-gammaCD) és hidroxietilezett (HE-gamma-CD) γ -ciklodextrinek 3%-os vizes oldatainak optikai tisztasága tárolás során 25 °C -on.

A metil- és hidroxipropil- γ -ciklodextrinekkal készített vizes oldat gyógyszerformulációk fizikai stabilitása még alacsony (4 °C) tárolási hőmérsékleten is megfelel az előírásoknak. A ciklodextrin alapú diclofenac szemcsepp kifejlesztése során ezért választottuk a γ -ciklodextrin hidroxipropil-éter származékát a módosítatlan γ -ciklodextrin helyett. A hidroxipropil- γ -ciklodextrinnel javított sajátosságú Voltaren® szemcsepp jó példája az ismert hatóanyagot tartalmazó, "szupergenerikum"-szerű, nem kovalens, új gyógyszerformáknak, melyek engedélyezése gyorsabb és sokkal kevésbé költséges. Ennél a szemcsepp készítménynél a hidroxipropil- γ -ciklodextrin egyidejűleg több funkciót is betöltött:

- a fiziológiához közeli pH-értéken hatékonyan fokozta a diclofenac vízdékonyságát, úgy, hogy azzal közepes stabilitású zárványkomplext képezett,
- a hatóanyag és a tartósítószer (benzalkónium-klorid) közötti összeférhetetlenséget kiküszöbölte
- nagy molekuláris üregmérete miatt nem lépett kölcsönhatásba a tartósítószerrel, annak antimikrobiális hatását részlegesen sem csökkentette,
- a hidroxipropil- γ -ciklodextrin számottevően fokozta a diclofenac szaruhártya-permeációját is, anélkül, hogy annak szövettani szerkezetében maradandó változást okozott volna

Ezt, a hidroxipropil- γ -ciklodextrinnel javított sajátosságú Diclofeanc szemcseppet – egyelőre Franciaország és Olaszország kivételével – Európa összes országában engedélyezték, s a termék 2002 végén már forgalomba is került. Külön előnyként említhető, hogy az új, ciklodextrin alapú diclofenac szemcsepp kidolgozása és szabadalmaztatása egy sikeres, de iparjogi védettség szempontból lejárát előtt álló, korábbi termék életciklusát évekkel hosszabbítja meg.

3. 1.5. Ciklodextrin származékok a vízdékonyság fokozására

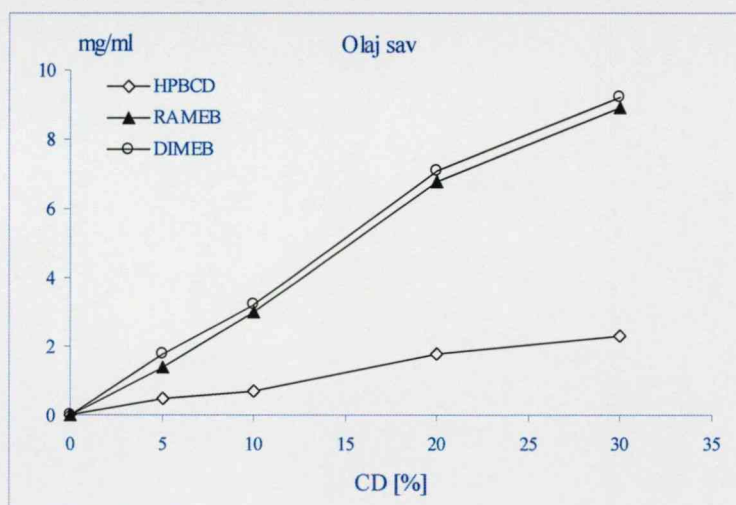
Munkatársaimmal két, gyakorlati szempontból jelentős ciklodextrin-származék kifejlesztésében vettünk részt. A 2-hidroxipropil- β -ciklodextrin (azóta az amerikai és európai gyógyszerkönyben szereplő segédanyag) és a metil- β -ciklodextrinek előállításában és gyakorlati alkalmazhatóságuk felderítésében közreműködtünk. (9)

Ma már mindkét ciklodextrin-származék több gyógyszerkészítményben, kozmetikumban és vegyipari termékben is jelen van a világpiacon.

A ciklodextrinek szelektív alkilezésére az eredetileg Szejtli és Lipták által optimalizált (Szejtli, J. és mtsai Straeke 32. (5) 165-169. 1980.) és léptéknövelhetővé tett Kuhn-Trischmann metilezést módosítottuk környezetkímélő, csökkentett mennyiségű báriumot igénylő eljárassá. A heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin nagy izomer tisztaságú terméké történő tisztítására egy, a gyógyszerhatósági követelményeket is kielégítő színvonalú technológiát dolgoztunk ki.

A Cyclolab e termékre a jó gyártási gyakorlat (cGMP) elveinek megfelelő gyártóhelyet épített, és az amerikai FDA előírások szerint, 95 %-nál nagyobb izomer tisztaságú heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrint exportál az USA-ba. A nagytisztaságú dimetil- β -ciklodextrint egy kardiológiai radio-diagnosztikumban a sugárforrás oldására és oldatban tartására alkalmazzák.

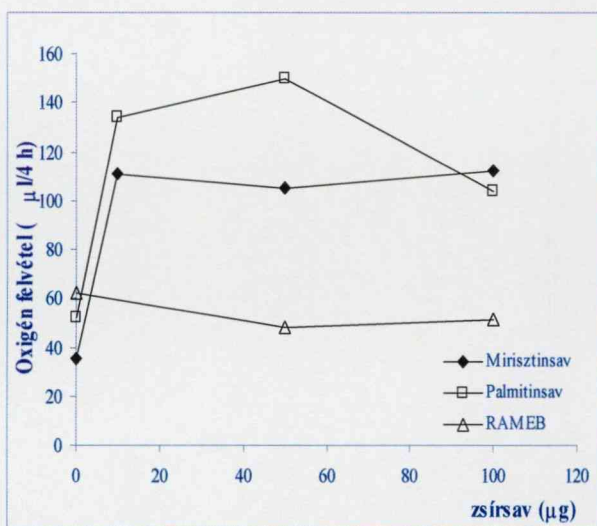
A metilezett- és hidroxipropilezett ciklodextrin-származékok komplexképző sajátságainak jellemzésére oldékonyságnövelő hatásuk mértékét használtuk. Különböző szerkezetű, zsíroldékony szubsztrátok (zsírsavak, zsíralkoholok, terpenoidok, szteroidok és karotinoidok) oldékonysági izoterma vizsgálatait végeztük el. Igazoltuk, hogy a lipidek oldékonyságának fokozására a metil- β -ciklodextrinek a legalkalmasabbak, a hidroxipropil származékok oldékonyságnövelő hatása lényegesen gyengébb. (28.ábra) A metil- és hidroxipropil- β -ciklodextrinnel oldhatóvá tett lipidek gyakorlati alkalmazhatóságát is vizsgáltuk. (10)



28. ábra. Az olajsav vízoldékonysága metilezett- és hidroxipropilezett- β -ciklodextrinek jelenlétében

Az oldékonysági izoterma adatok alapján eljárást dolgoztunk ki vízdoldható lipid-metil-és hidroxipropil- β -ciklodextrin komplexek előállítására. Megállapítottuk, hogy az oldható komplexekben nagy moláris feleslegben kell e ciklodextrin származékokat alkalmazni ahhoz, hogy vizes közegben a komplexek maradéktalanul oldódjanak. Az átlagos lipid tartalom az oldható komplexekben csak mintegy 3-6 % körüli. Emiatt ezek a formulációk csak olyan célra alkalmazhatók gazdaságosan, ahol kis mennyiségű vízben oldott lipidre van szükség (pl. mikrobiológiai és sejt- és szövet szaporító táptalajok, biotechnológiai tápoldatok).

Vizsgálataink szerint a vízben oldhatóvá tett zsírsavak baktérium táptalajokban biológiailag könnyen hozzáférhető szén, azaz energiaforrásként viselkednek. Vízdoldható zsírsav-metil- β -ciklodextrin komplexek segítségével sikerült a Mycobacteriumok közé tartozó lepra bacillus (*Mycobacterium leprae*) *in vitro* tenyésztését elsőként megvalósítani. (11, 12) A 29. ábra a vízdoldható mirisztin- és palmitinsav komplexekkel dúsított táptalajon szaporodó lepra bacillusok oxigénfelvételét mutatja.



29. ábra A random metil- β -ciklodextrinnel (RAMEB) szolubilizált palmitinsav és mirisztinsav hatása az *in vitro* tenyésztett leprabacillusok oxigénfelvételére (kontrol RAMEB)

A megnövekedett oxigénfelhasználás biokémiai bizonyítéka annak, hogy a metil- β -ciklodextrinnel “aktivált” zsírsavak átjutottak a baktérium speciális sejtfalán és metabolizálódtak. Az is látható, hogy a zsírsavak vízdoldékonyságát biztosító metil- β -ciklodextrin önmaga nem okozott változást a baktériumok oxigénfelvételében, tehát

maguk a vízzoldható lipidek, és nem a ciklodextrin származék szolgált hasznosítható energiaforrásként. A leprakutatásban élenjáró kanadai mikrobiológussal, Kátó professzorral együttműködve először közöltünk sikeres leprabacillus-tenyésztést humán leproma szövetből is, melynek egyelőre csak klinikai-diagnosztikai jelentősége van, de a speciális mikobaktérium sejtfalon történő sikeres lipid transzportnak terápiás jelentősége is lehet.

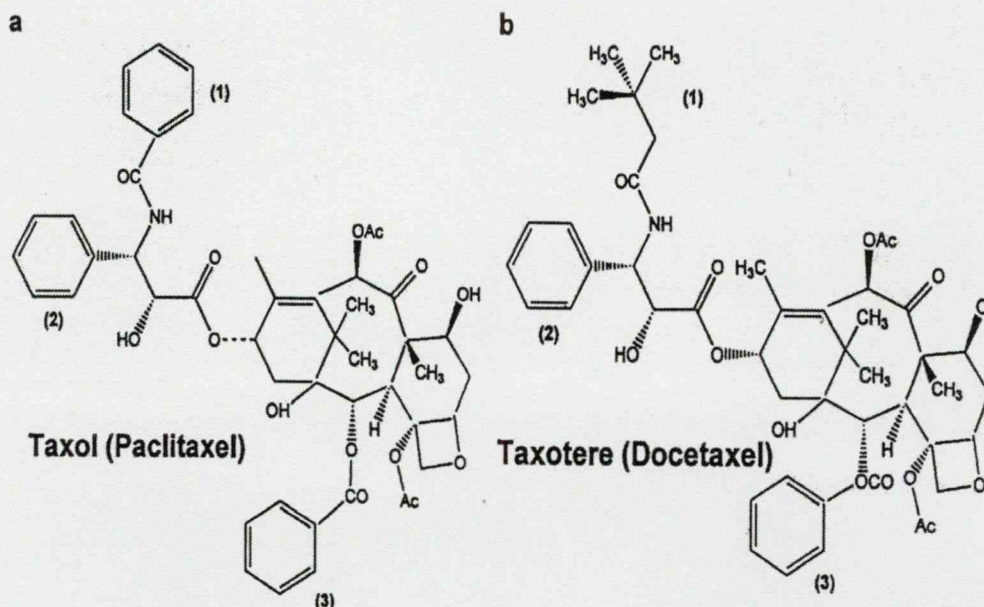
Kutatási eredményeink közlését követően, számos kételkedő megjegyzést kaptunk szakmai körökből mindaddig, míg felismerésünk helytállóságát független német és amerikai leprakutató laboratóriumok is igazolták. (*Stich-Gróh, V. és mstai Intl. J. Leprosy 63.1. 100-101. 1995, és Ishaque, M. és mtsai Microbios, 75.171-179. 1993.*) Azóta több laboratórium (pl. a würzburgi Armauer Hansen Leprakutató Intézet) rendszeresen használ vízzoldható palmitinsav, szfingomielin, szfingozin és egyéb lipid/metil- β -ciklodextrin komplexeket a táptalajokban.

E kutatási irány “melléktermékeként” ciklodextrinnel vízzoldhatóvá tett szteroid (koleszterin, hidrokortizon, β -ösztadiol) zsírsav és retinoid került a Sigma finomvegyszer cég sejt- és szövetkultúra-adalék terméklistájára. Ezek nagy része laboratóriumunk terméke.

A vízzoldható lipidek biotechnológiai alkalmazása in vitro sejt- és szövetszaporítás terén a közeljövőben várható. A napjainkig elterjedten használt lipid szolubilizáló marha szérum albumint (BSA) a hatóságok humán gyógyszergyártásra (pl. oltóanyagok, biotechnológiával gyártott egyéb gyógyszerek) – a prionszennyezés veszélye miatt – nehezen, vagy nem engedélyezik. Ezért a legtöbb biotechnológiai cég lázasan keresi az állati eredetű fehérje megfelelő helyettesítőjét. A növényi eredetű ciklodextrinek és kémiai módosított származékaik - mind lipid-oldó képességüket, mind hatásági megítélésüket tekintve - megfelelőnek tűnnek e célra.

3. 1.6. Ciklodextrinek a parenterális gyógyszerformulálásban

A ciklodextrin származékok oldékonyságfokozó hatásának gyógyszeripari felhasználására a parenterális gyógyszerformák szolgálnak példaként. A korszerű gyógyszerformulálás egyik jelentős kihívásának tekinthető a daganatellenes hatású diterpén-szerkezetű, vízben gyakorlatilag oldhatatlan taxánok, a paclitaxel és a docetaxel (30.ábra) oldhatóvá tétele vizes gyógyszerformulációkban.

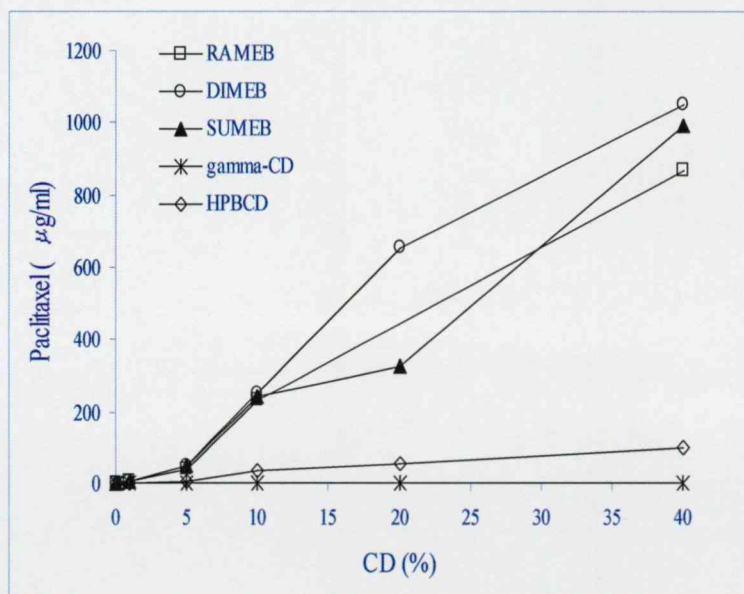


30. ábra A docetaxel és paclitaxel szerkezete

E citotoxikus anyagok vízdékonysága tized $\mu\text{g/mL}$ nagyságrendű és ezidáig detergens és szerves oldószer használata nélkül nem sikerült vizes közegben terápiásan alkalmazható koncentrációban oldani. A téma jelentőségét és nehézségét mutatja, hogy a taxoidok gyógyszerészeti formulázását eddig mintegy 450 találmány tárgyalja, és 1983 óta folyik a “páciensbarát” optimális gyógyszer-formuláció keresése. Ezekben a találmányi leírásokban a kémiai szerkezetmódosítástól kezdve a többkomponensű, kolloidális olaj-foszfolipid-fehérje kombinációkon át a nanokapszulázásig szinte az összes modern gyógyszer technológiai eljárás előfordul. Megfelelően megválasztott ciklodextrinekkal először nekünk sikerült a paclitaxel és docetaxel vízdékonyságát terápiás jelentőségű szintre fokozni, úgy, hogy a taxoid oldatok előállításához sem szerves oldószert, sem felületaktív anyagot nem alkalmaztunk.

A paclitaxel és a docetaxel kémiai szerkezete (30 ábra), molekuláris dimenziói és polaritása a nagy üregméretű γ -ciklodextrin használhatóságát sugallják. Meglepődve

tapasztaltuk azonban, hogy a taxoidok vízdékonyságának fokozására éppen a natív γ -ciklodextrin nem alkalmas. (13, 14)

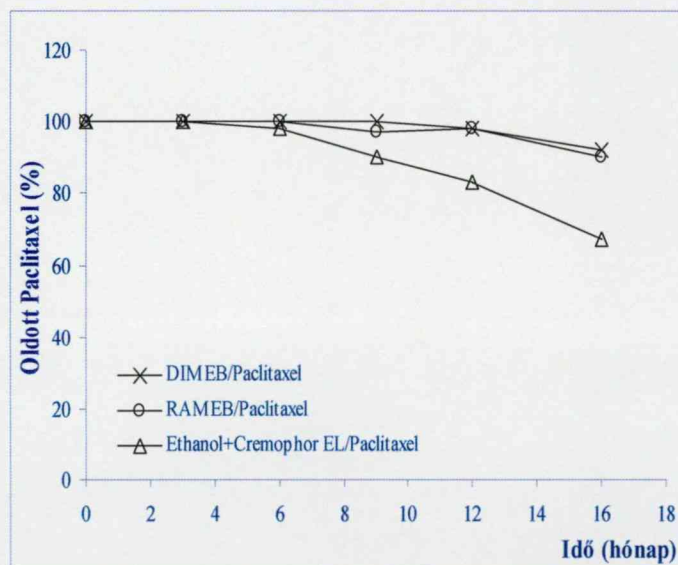


31. ábra A Paclitaxel vízdékonysága metilezett(RAMEB,DIMEB)-, hidroxipropilezett (HPBCD) és szukcinil-metilezett (SUMEB)- β -ciklodextrinek, valamint a natív γ -ciklodextrin jelenlétében

A 31. ábrán bemutatott oldékonysági izotermából leolvasható, hogy a paclitaxel oldékonyságfokozására - direkt szolubilizálással - csak a metilezett β -ciklodextrinek alkalmasak. A hidroxipropil- β -ciklodextrin szolubilizáló hatásának gyakorlati jelentősége nincs, mert a 0.8-1.0 mg/mL oldott paclitaxel az a minimum, melynek bármilyen terápiás jelentősége lehet. Figyelemreméltó, hogy a legnagyobb üregméretű, és fokozott vízdékonyságú γ -ciklodextrin semmilyen oldékonyság növekedést nem okozott.

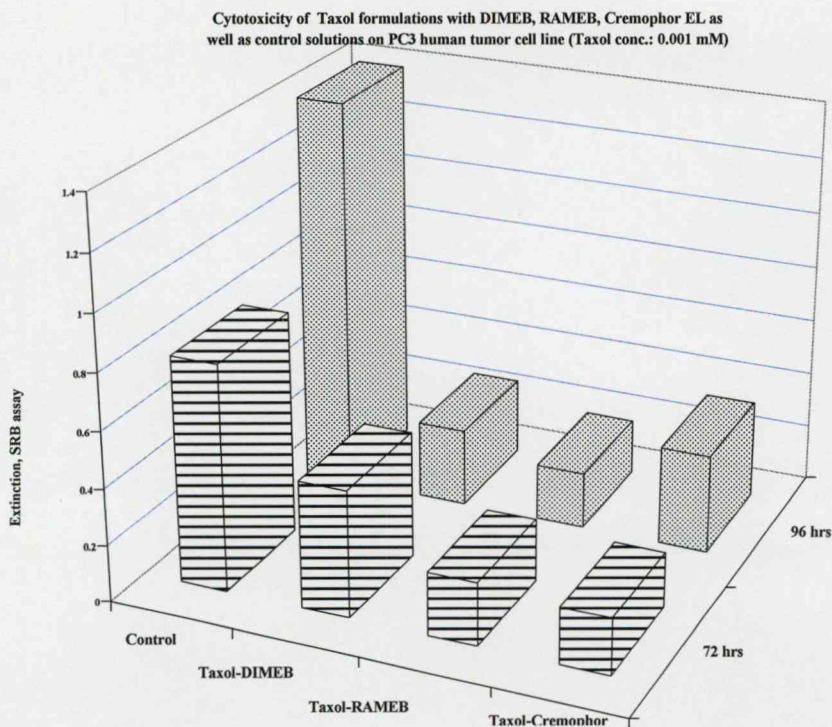
A metil- β -ciklodextrin 40%-os oldatában 1mg/mL oldott paclitaxel koncentráció érhető el, és ezek a vizes oldatok mind fizikai mind kémiai értelemben stabilisnak bizonyultak. Normál körülmények között, 16 hónap tárolás alatt a paclitaxel 90 %-a a metil- β -ciklodextrines oldatokban bomlatlan marad. A jelenleg forgalomban levő formulációt (Taxol® Bristol-Myers Squibb) modellező etanol + Cremophor EL

detergens eleggyel készült oldatban, azonos körülmények között mindössze 67% paclitaxel maradt bomlatlan. (32.ábra)

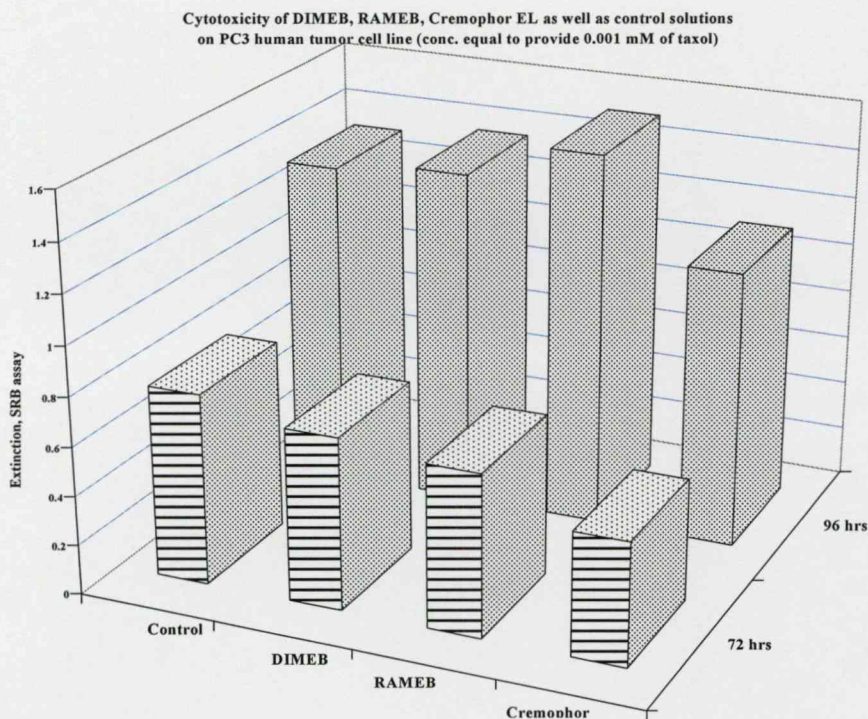


32. ábra A ciklodextrines és oldószeres oldatok stabilitása 25 °C-on.

A fenti eredmények szerint a paclitaxel vízben történő oldására mind a random metil- β -ciklodextrin (RAMEB), mind a heptakis 2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin (DIMEB) alkalmazható. A metil- β -ciklodextrinek segítségével előállított vizes paclitaxel oldatok tették lehetővé azt, hogy a daganatellenes hatású taxán származék *in vitro* citotoxicitása a hatóanyagot - a piacon levő termékben - oldatban tartó detergens+oldószer elegyétől elkülönülten is kimutható legyen. (15) (33.és 34. ábra) Ennek a megfigyelésnek két szempontból is van terápiás jelentősége. A taxánok hatásáról szóló irodalmi adatok szerint a ma napig nem teljesen tisztázott, mennyire játszik szerepet a paclitaxel hatékonyságában, citotoxicitásában a CremophorEL nevű felületaktiv adalék. (Liebman, J. és mtsai: *Cancer Chemother. Pharmacol.* 33.331-339 1994. Csóka, K. és mtsai.: *Cancer*, 79.6. 211-230. 1997, Fjällskog, M. A. és mtsai: *Lancet* 342. 8875. 873. 1993.) A másik Cremophor EL által okozott nehézség az, hogy az adalék parenterálisan adva toxikus, allergizál. A betegek a paclitaxeles kezelést megelőzően emiatt szteroid és antihisztamin elő- kezelésre szorulnak. Nem meglepő, hogy a gyógyszeripar *immár húsz éve folyamatosan keres egy jobban tolerálható paclitaxel formulációt.*



33. ábra A hagyományos (Taxol-Cremophor-etanol) és a metil- β -ciklodextrinekkel készített (Taxol/DIMEB, Taxol/RAMEB) paclitaxel oldatok *in vitro* sejtsztódást gátló hatása



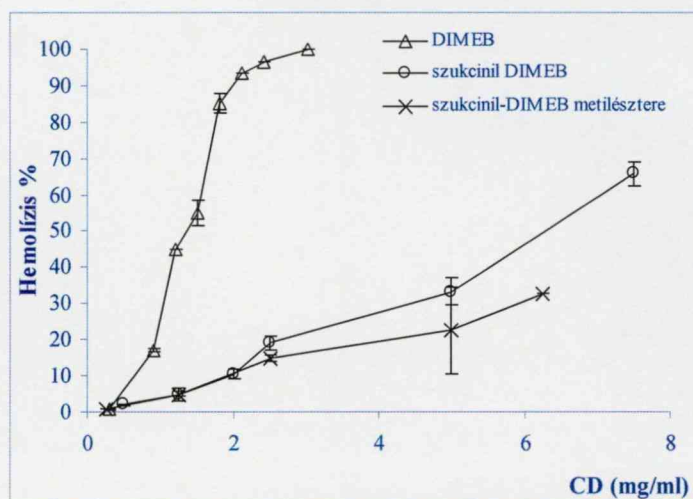
34. ábra A paclitaxel feloldásához használt hagyományos (Cremophor-etanol) és metil- β -ciklodextrines oldószerek (DIMEB, RAMEB) citotoxicitása a hatóanyag nélkül.

A legnagyobb mértékű vizes paclitaxel koncentrációt biztosító heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin fokozott membrán aktivitása, hemolizist okozó mellékhatása miatt (*J. Szejtli: J. Incl. Phenomena 1 (2) 135-150, 1983.*) parenterálisan csak kis koncentrációkban alkalmazható. A jelenség hátterében a metil- β -ciklodextrinek és a sejtmembránt alkotó lipidek, elsősorban a koleszterin közötti kölcsönhatás áll.

A parenterális gyógyszervivő-anyag fejlesztésében kedvezőtlen metil-ciklodextrin-koleszterin kölcsönhatást azóta a sejtbiológusok a koleszterin jelenlétéhez kapcsolható membrán transzport folyamatok befolyásolására és vizsgálatára rutinszerűen alkalmazzák. (*Christian, A.E. és mtsai J. Lipid Res. 38. 2264-2272. 1997.*)

A metil- β -ciklodextrin hemolizis provokáló mellékhatását a vegyület további kémiai módosításával kívántuk csökkenteni úgy, hogy eközben oldékonyságfokozó képességét ne veszítse el. Irodalmi analógiák alapján ionos csoportok metil- β -ciklodextrinbe történő beépítésével kíséreltük meg a hemolizis indukáló mellékhatást csökkenteni. (*Jodál, I., Nánási, P., Szejtli, J.: Proc. 4th Intl Symp. on Cyclodextrins, München, page 412-425. 1988.*)

Negatív töltést hordozó, éter-észter típusú karboxi-acil-metil- β -ciklodextrin származékok sorát állítottuk elő és hasonlítottuk össze hemolizáló hatásukat a metil- β -ciklodextrinével. (*Szabó, T. és mtsai Hung. Pat. Appl. 201.783. 1987.*) A negatív töltés bevittele a molekula membránaffinitását jelentősen csökkentette, ennek megfelelően az anionos metil-ciklodextrinek hemolitikus hatása is csökkent. Az ionos csoport metil- β -ciklodextrinbe építésének élettani jelentőségét mutatja, hogy míg a heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin 2.5 mg/mL koncentrációban 96 %-os hemolizist okozott, ugyanebben a koncentrációban a 3-O-mono-szukcinil-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrin csak 19 %-ban idézett elő hemolizist. Annak eldöntésére, hogy a negatív töltés mennyiben játszik szerepet a membránaktivitás csökkentésében, karboxi-acil-származék karboxil-csoportját diazo-metánnal metileztük, majd vizsgáltuk a vegyület hemolizis provokáló hatását. Kiderült, hogy a membránkárosító hatás csökkentéséért nem kizárólag a negatív töltés jelenléte felelős, mert ez a metilészter származék sem okozott számottevő hemolizist. (35. ábra)



35. ábra A dimetil- β -ciklodextrin (DIMEB), a szukcinil-metil- β CD és a szukcinilmetil- β -ciklodextrin-metilészter *in vitro* hemolizáló hatása

A 2,6-di-O-metil-3-O-mono-szukcinil- β -ciklodextrint csökkent membránaktivitása miatt a paclitaxel formulázására is felhasználtuk, mert oldékonyságfokozó hatása a dimetil- β -ciklodextrinnel nagyjából azonos volt. (lásd 31. ábra)

3. 1.7. Hidroxialkil- és hidroxialkenil-ciklodextrinek

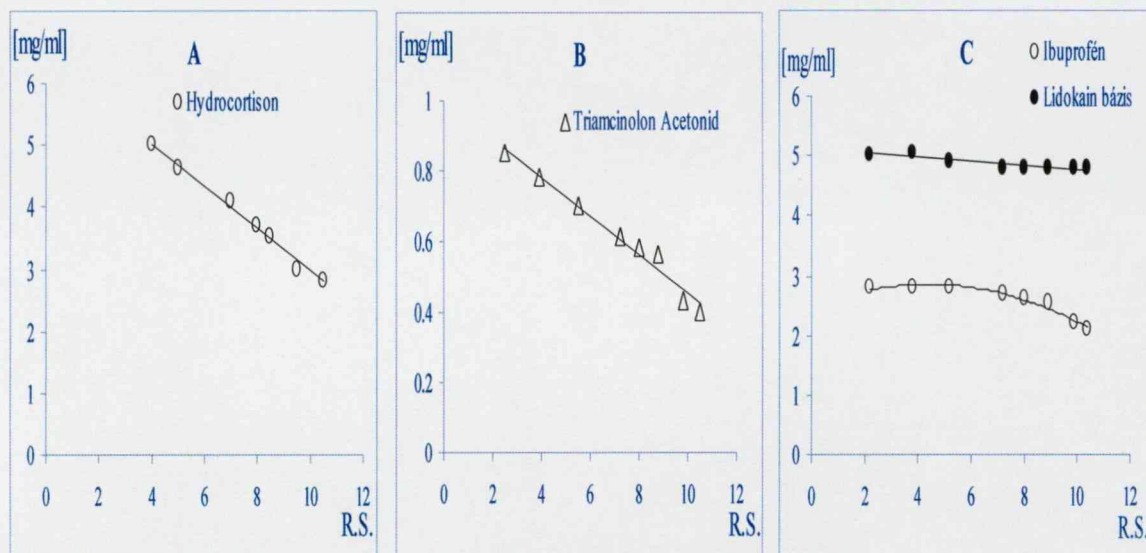
Gazdaságos és léptéknövelhető eljárást dolgoztunk ki a hidroxipropil-ciklodextrinek előállítására és parenterális gyógyszer vivőanyaggá történő tisztítására. E fokozott vízóldékonyságú, nagyszámú izomer keverékből álló származékok fizikai és kémiai sajátosságait részletesen vizsgálva felismertük, hogy a különböző helyettesítettségű fokú egyedek azonosítása üvegesedési átmeneteik jellemző hőmérsékletének DSC-módszerrel történő meghatározásával lehetséges. (Novák, Cs., Pokol Gy., Szente, L., Szejtli, J. *Anal. Chim. Acta* 282. 2. 313-316. 1993.)

Ez egy gyors és informatív analitikai alternatívának számított az akkoriban még nehezen hozzáférhető gyors-atom ütközéses (FAB) -tömegspektrometriás módszer mellett. Összefüggést mutattunk ki a hidroxipropil- β -ciklodextrinek szubsztitúciós foka, a hidroxipropil csoportok eloszlási mintázata, valamint egyes hatóanyagokra gyakorolt oldékonyságfokozó hatása között. (16)

Kísérletileg igazoltuk, hogy a magasabb szubsztitúciós fokú hidroxipropil- β -ciklodextrinek nagyobb térkitöltésű vendégmolekulákat (pl. szteroidok) kevésbé

hatékonyan komplexálnak, mint a kisebb méretűeket. Az alacsony helyettesítettségű fokú hidroxipropil- β -ciklodextrinek pedig a nagyobb méretű vendégmolekulákkal képeznek stabilisabb zárványkomplexeket. Ez a jelenség az összes vizsgált szteroid hatóanyagnál és ezekhez hasonlóan nagy térkitöltésű vendégmolekulánál is észlelhető volt. (36.ábra)

A zárványkomplex-képzésen alapuló oldékonyságfokozáskor megfigyelt szerkezet/hatás (azaz szubsztitúciós fok/oldékonyság fokozó hatás) összefüggés korai felismerése fontos szerepet játszott a hidroxipropil- β -ciklodextrin végső változatainak kialakításánál. Nem véletlen, hogy ma a gyógyszeriparban egy átlagosan 3, illetve egy átlagosan 5 szubsztitúciós fokú hidroxipropil- β -ciklodextrin termék használatos. Ezek a segédanyagok ugyanis majdnem minden típusú hatóanyag formulázására és oldékonyságfokozására alkalmasak.

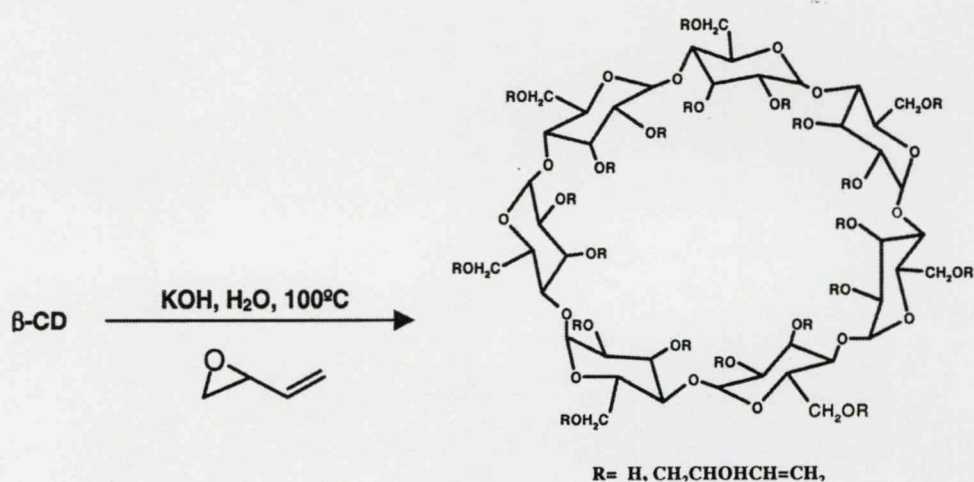


36. ábra Szteroid (hidrokortizon, triamcinolon)- és nem-szteroid (ibuprofen, lidokain) hatóanyagok oldékonysága vízben különböző helyettesítési fokú (R.S.) 2.5%-os HP β CD jelenlétében

Jól látható, hogy a szteroidok komplexálása és oldékonyságfokozása a szubsztitúciófok növekedtével arányosan csökken. A kisebb térkitöltésű hatóanyagok pl. ibuprofen vagy a lidokain nem, vagy kevésbé érzékeny a szubsztituensek számának növekedésére. Közel harminc, különböző molekulaméretű hatóanyag hidroxipropil- β -ciklodextrines szolubilizálási kísérletei egészítették ki és erősítették meg a 36. ábrán bemutatott tendenciákat. Ezek szerint a kémiai módosított

ciklodextrinek és a vendégmolekulák között kialakuló zárványkomplexek stabilitásában nemcsak az aktuális ciklodextrin üregméret, hanem a molekuláris üreg bejáratának kémiai környezete, polaritása és geometriai fedettsége is meghatározó szerepet játszanak. Hasonló tendenciát mutat be a fenolftalein különféle szubsztitúciós fokú hidroxipropil- β -ciklodextrinnel képzett komplexének stabilitási állandóiról szóló közlemény. (Buvári-Barcza, Á., Kajtár, J., Szente, L., Barcza, L.: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 489. 1996.)

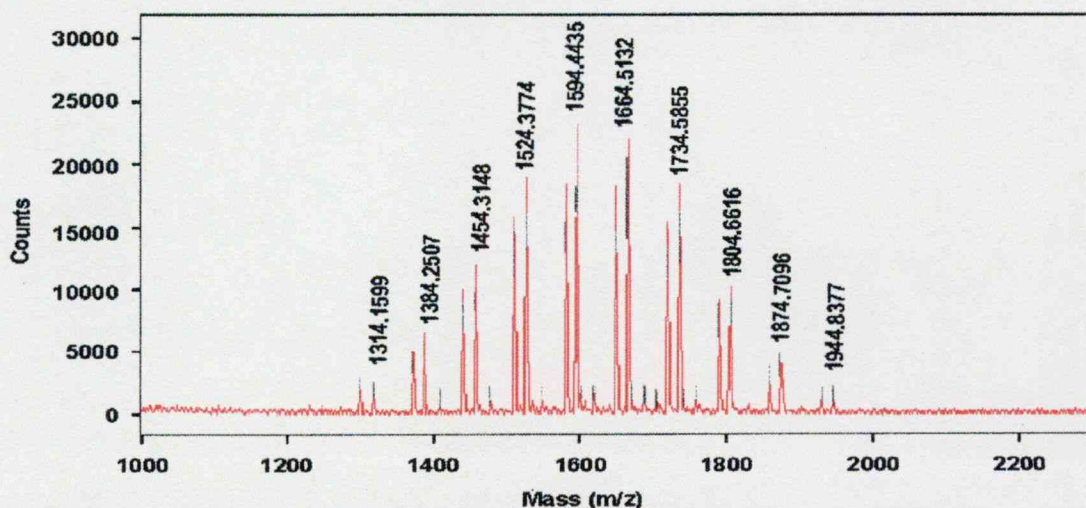
Az Eastman Chemical kutatóival együttműködve eddig ismeretlen, új hidroxi-alkenil-ciklodextrinek szintézisét, sajátságait és alkalmazási lehetőségeit írtuk le. Részleteiben az átlagosan 6-os szubsztitúciós fokú hidroxibutenil- β -ciklodextrin (Hben- β CD, 37.ábra) fizikai, kémiai és funkcionális sajátságait tanulmányoztuk. Az új származék szintézise és sajátságainak megismerése a hidroxipropil- β -ciklodextrin fejlesztés analógiájának tekinthető.



37.ábra A hidroxibutenil- β -ciklodextrin képződése β -ciklodextrin és 3,4-epoxi-butén reakciójával

Megállapítottuk, hogy a hidroxi-alkenil-ciklodextrinek sok-komponensű, statisztikusan helyettesített izomerek elegyei. (38. ábra)

E származékok szilárd állapotban stabilis, nem kristályosodó, amorf anyagok.



38. ábra Az átlagosan 6.5 szubsztitúciós fokú hidroxibutenil- β -ciklodextrin komponens eloszlása (MALDI-TOF-tömegspektrum)

Nagyfokú vízzoldékonyságuk (>50% 25 °C-on) mellett - a korábbi analóg és már ipari sztenderdnek számító - hidroxipropil-ciklodextrinekkal összemérhető, vagy azokénál nagyobb stabilitási állandójú zárványkomplexeket képeznek lipofil hatóanyagokkal (17). Néhány vendégmolekula 1:1 molarányú komplexére számított stabilitási állandó értéket a 4. táblázat adatai alapján hasonlíthatjuk össze.

4. Táblázat Különböző vendégmolekulák hidroxibutenil- β -ciklodextrin (Hben β CD) és a hidroxipropil- β -ciklodextrin (HP β CD) komplexeinek stabilitási állandói (17)

vendégmolekula	$K_{\text{Hben}\beta\text{CD}} (\text{M}^{-1})$	$K_{\text{HP}\beta\text{CD}} (\text{M}^{-1})$
hidrokortizon	629	1373
ibuprofen	520	376
glibenclamid	136	62
salicilsav	183	149
toluol	1111	773
citrál	312	158

Előzetes ártalmatlansági vizsgálatok szerint a hidroxibutenil- β -ciklodextrin származékok sem orális, sem parenterális úton nem toxikusak. Az új hidrofíl származékok parenterális gyógyszerivő anyagként történő alkalmazása a hidroxipropil-ciklodextrinek konkurenciáját jelentheti a jövőben.

3.2. Példák a ciklodextrin technológia élelmiszeripari és kozmetikai alkalmazására

Ciklodextrin-alapú, szabályozott hatóanyag-leadású rendszerek élelmiszeripari és kozmetikai alkalmazási lehetőségeit vizsgálva molekulárisan kapszulázott aromák és illatanyagok ipari gyártását és termékké fejlesztését valósítottuk meg. Több, forgalomban lévő fűszertermékben és kozmetikai készítményben az általunk kidolgozott ciklodextrin zárványkomplexeket alkalmazzák.

3.2.1. Molekulárisan kapszulázott aromaanyagok

Tanulmányoztuk a természetes és szintetikus aromaanyagok ciklodextrinekkal történő molekuláris kapszulázásának lehetőségét. Összefüggéseket tártunk fel az aromaanyagok polaritása, geometriája és a különböző ciklodextrinekkal képzett zárványkomplexek stabilitása között.

Vizsgálati módszereket dolgoztunk ki az aromaanyagok ciklodextrin komplexeinek szilárd fázisban történő jellemzésére. Az aroma/ciklodextrin komplexek vizsgálatára ismert, más célra kifejlesztett módszereket adaptáltunk (ilyen pl. a pirolízis rétegekromatográfia a TAS technika, a Warburg-gázmeghatározás, vákuumszublimáció stb.) Indirek módon igazoltuk, hogy az aromanyagok valóban molekulárisan kapszulázott és nem adszorpciós módon kötött állapotban vannak. A szabad, az adszorbeált formában és a molekulárisan kapszulázott aromaanyagok – azonos körülmények közötti - viselkedésének összehasonlításával gyűjtöttünk bizonyítékokat az aromaanyagok molekuláris diszperzitásáról, komplexált állapotáról. A különféle formulációkban levő aromák termikus viselkedést tanulmányoztuk dinamikus (gyors felfűtés során) és statikus (izoterm magasabb hőmérsékleten tartás) hőterhelésekkel. Igazoltuk, hogy a valódi zárványkomplexekben levő illóanyagok adott körülmények közötti tenziója jóval alacsonyabb, mint az adszorbeált formaké.

Többféle szerkezetű és összetételű természetes, mesterséges (természetazonos) és termikus úton képződő aroma anyagok és a ciklodextrinek kölcsönhatását tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy az aromák ciklodextrinnel történő molekuláris kapszulázásának fontosabb következményei az alábbiak:

- Fázisátalakulás (folyadékból szilárd por)
- Az aroma homogén eloszlása a porhalmazban
- A ciklodextrin aromakomplexek nem higroszkópos porok
- Az aromák illékonysága csökken (fokozott aroma retenció)
- Megnövekedett kémiai stabilitás (hő-, fény-, oxidáció)
- Szabályozott aromaanyag-leadás (vízre aktiválódó formuláció)
- Fokozott nedvesedés és oldékonyság vízben

Mivel a ciklodextrines komplexképzés molekula-molekula kölcsönhatás, a vendég és a gazgamolekula moltömege és a képződött komplex sztöchiometriája elég szigorúan behatárolja a maximálisan komplexbe zárható aroma mennyiségét. (5.Táblázat)

5.Táblázat A β -ciklodextrin komplexekben elérhető aromatartalom különféle típusú és kémiai szerkezetű aromaanyagok esetén

Aroma típus	aromatartalom a komplexben (g/100g)
citrál-CD	9.5
Citronellál-CD	9.0
β -ionon-CD	13.3
Linalool-CD	10.1
linalil-acetát-CD	9.8
L-mentol-CD	10.6
fahéj olaj-CD	10.4
jázmin olaj-CD	11.0
bergamott olaj-CD	9.8
citrom olaj-CD	10.2
vöröshagyma olaj-CD	10.0
fokhagyma olaj-CD	9.4

Ez a gazdaságossági szempont már a fejlesztés korai szakaszában felmerült, hiszen a mikrokapszulázott aroma formáknál a bezárt aromaanyag mennyisége 40-60 %-is lehet. Az aromák különböző fajtáihoz legmegfelelőbb ciklodextrin típus kiválasztása közben kiderült, hogy a természetes aromaanyagok –mivel legnagyobb részük mono- és szeszkviterpén, illetve fenilpropán típusú vegyület- molekula geometriájuk és méretük alapján a β -ciklodextrinnel hatékonyan komplexálhatók.

Az aroma ciklodextrin komplexek ára és engedélyezhetősége szempontjából szerencsés körülmény, hogy a pozitív GRAS (Generally Recognised As Safe)-listán szereplő és néhány dolláros áron elérhető ciklodextrin fajta a legalkalmasabb az aromák molekuláris kapszulázására.

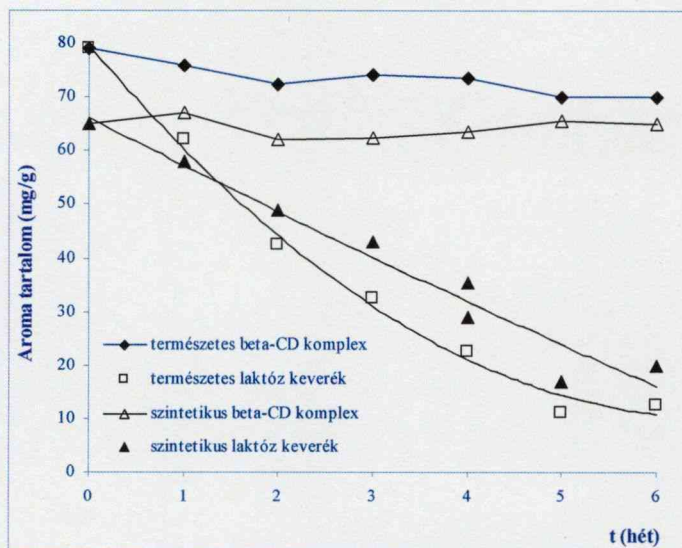
A molekulárisan kapszulázott aromaanyagok mind fizikai mind kémiai értelemben kiemelkedő stabilitást mutatnak. A komplexképzés következtében megnövekedett fizikai stabilitásra az aromák illékonyságának csökkenése utal. A hordozóra adszorbeált és a ciklodextrinnel komplexált, azonos összetételű aromaformák hőterhelése bizonyítja a komplexképzés stabilizáló hatását. Mind statikus mind dinamikus hőterhelések igazolták a komplexképzés illékonyssággal szembeni védő hatását.

Statikus hőterhelések

Ennél a hőtűrési tesztnél állandó magas hőmérsékleten, hosszabb ideig, nyitott edényekben tárolt aromaformulációk aroma tartalmának változását követtük a tárolási idő függvényében.

A főként aromás merkaptánokból és N-heteroaromás pirazinokból álló szintetikus és természetes kávéaromák komplexének példáján látható, hogy a β -ciklodextrinnel történő komplexképzés nagymértékben csökkenti az illó aromák tenzióját. (19)

60 °C-on 6 hét alatt a száraz, szilárd komplexek a fizikai keverékekkel szemben gyakorlatilag nem veszítettek kezdeti aromatartalmukból. (39.ábra)



39. ábra. A természetes és a szintetikus kávéaromák β -ciklodextrin komplexeinek és laktózos keverékeinek termikus stabilitása 60 °C-on tárolva. (19)

Ezek a statikus hőterheléses tesztek a ciklodextrin komplexek aromamegtartó képességének jellemzésére alkalmasak, és egyben gyorsított tartam-stabilitási vizsgálatnak is tekinthetők. A komplexbe zárt és az adszorbeált aromaformák illékonyága között jelentkező különbséget a molekulárisan kapszulázott állapot indirekt bizonyítékának is tekintjük.

A főként mono-terpenoidokból (pl. citrom) és dialkil-szulfidokból (pl. fokhagyma) álló, sokkomponensű, természetes illóolajok β -ciklodextrin komplexeinek és a megfelelő fizikai keverékeinek hőterhelésekor hasonló tendenciákat észleltünk. A magas hőmérsékletű tárolás során vett mintákban gázkromatográfias módszerrel nemcsak az összes megőrzött aroma mennyiségét, hanem az aromák összetételének esetleges változásait is megfigyelhettük. (6. Táblázat)

6. Táblázat A komplexbe zárt és a laktózon adszorbeált citromolaj és a fokhagymaolaj mennyiségének változása (2 hét, 60°C, 45 % páratartalom).

Minták	Maradék aromaanyag GC*-vel (%)					
	0. nap	4. nap	6. nap	8. nap	12. nap	14. nap
Fokhagyma/laktóz	100	70	66	55	32	21
Fokhagyma / β CD	100	107**	96	97	98	96
Citromolaj/laktóz	100	88	60	17	14	3
Citromolaj/ β CD	100	105**	98	97	99	89

*GC:gázkromatográfia, ** a látszólagos növekedés oka a víztartalom csökkenése

Dinamikus hőterhelések

A dinamikus hőkezelések során fejlődő gáz elemzéses (EGA: Evolved Gas Analysis) módszert dolgoztunk ki a Budapesti Műszaki Egyetem kutatóival együttműködésben. (Novák, Cs. Szente, L. Schmid G. Proc. 7th.Intl.Symp.on Cyclodextrins Tokyo, 1994.) Az EGA termoanalitikai technikával tanulmányoztuk a molekulárisan kapszulázott és a keverék formában (adszorbeált) levő illó aromákat. A szilárd minták felfűtése során az elillanó szervesanyag mennyiségét a hőmérséklet függvényében lángionizációs detektálással követve meg tudtuk határozni az adott hőmérséklet-tartományban gőztérbe jutó aromahányad mennyiségét. Így információt szereztünk a ciklodextrinnel komplexált illóanyagok hőindukált felszabadulásának folyamatáról. (7. táblázat)

7. Táblázat A molekulárisan kapszulázott és az adszorbeált aromák illékonyságának jellemzése fejlődő gáz elemzéssel.

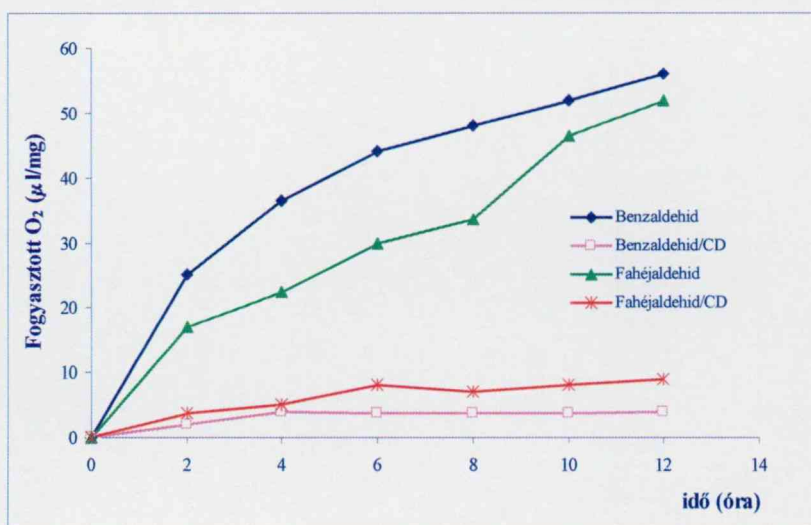
Minták	A felfűtés hatására távozó aroma mennyisége (%)			
	80-90 °C	130-145 °C	150-160 °C	175-250 °C
Fokhagyma/laktóz	94	2	-	-
Fokhagyma/ β CD	2	5	12	45
Vöröshagyma/laktóz	90	4	-	-
Vöröshagyma/ β CD	5	7	13	66
Kapor/laktóz	96	-	-	-
Kapor/ β CD	4	9	17	55

A dinamikus hőterheléses tesztek nemcsak a komplexképzés stabilizáló hatását igazolták, hanem az aroma/ciklodextrin komplexek ténylegesen komplexált és a komplex felületén adszorptíve kötött aroma mennyiségének megállapítására is alkalmasnak bizonyultak.

A molekuláris kapszulázással az aromaanyagok kémiai értelemben is stabilizálódnak. A vendégmolekulának a ciklodextrin gazdamolekula üregében történő átmeneti tartózkodása a molekulák egészét vagy azok egy adott részletét elzárja a külső behatásoktól. Ez a védelem mind az oxigénnel, a fényhatással mind pedig egy másik aroma komponessel történő kölcsönhatásra vonatkozhat.

Oxidációval szembeni stabilizálás

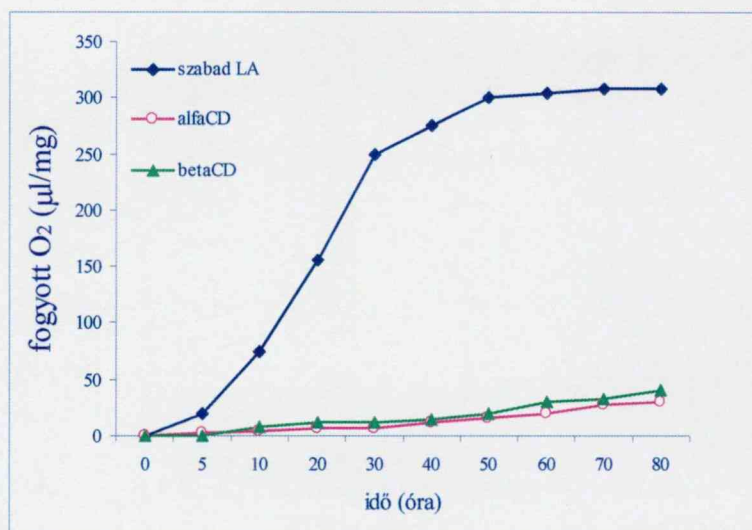
Legelső publikált munkáinkban szabad, adszorbeált és komplexbe zárt oxigén-érzékeny aromaalkotók (benzaldehyd, fahéjaldehyd) és telítetlen zsírsavak oxigénfelvételét tanulmányoztuk Warburg technikával. Az eredetileg biokémiai célra fejlesztett technikában rejlő pontos gáz fejlődés- és fogyás meghatározásának lehetőségét adaptáltuk a komplexált és a szabad, vagy adszorpciós módon kötött hatóanyagok oxigénfogyasztásának összehasonlítására. Később ezt a módszert rutinszerűen használták a komplexképződés tényének bizonyítására. (40. ábra)



40. ábra A szabad és a β -ciklodextrinbe zárt benzaldehyd és fahéjaldehyd oxigénfelvételek követése Warburg-technikával (18)

Kimutattuk, hogy a komplexképzéssel az oxidációra hajlamos aroma anyagok még tiszta oxigén atmoszférában is elhanyagolható mértékben oxidálódnak, szemben a szabad aldehidekkel. Hasonló oxigénfelvételi profilokat rögzítettünk különböző mértékben telített zsírsavak ciklodextrin komplexeinek vizsgálata során. (41. ábra)

A vendégmolekulák típusától és szerkezetétől függetlenül a ciklodextrin komplexbe zárt oxidálható vendégmolekulák oxigénfogyasztása - sikeres komplexképzés - esetén elhanyagolhatóan kicsi, míg a nem komplexált formák rohamosan oxidálódnak.

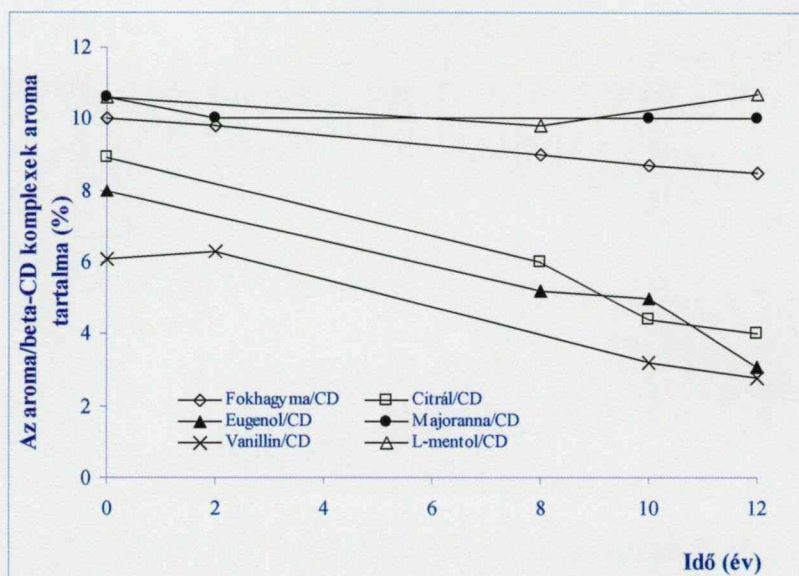


41. ábra A szabad és a ciklodextrinekkal komplexált linolénsav (LA) oxigénfelvétele Warburg-technikával

Tartamstabilitás

A ciklodextrin komplexképzés stabilizáló hatásának igazolására az engedélyező hatóság elsősorban a hosszú idejű, normál körülmények közötti tárolás során észlelhető változásokra kíváncsi. A fent bemutatott ún. terhelési stabilitási adatoknak – bármilyen biztatóak is- csak kiegészítő szerep jut. A gyógyszeripari gyakorlatban pl. 25 °C –on, 68 % relatív páratartalmú térben, a két évig történő tárolás alatt bekövetkező változásokat kell regisztrálni. Vizsgálatainkban különféle szerkezetű aromaanyagok (terpenoid, fenil-propán, alkilszulfid, fenolos, heteroaromás stb.) β -ciklodextrin komplexeinek hosszú idejű (12 év) normál körülmények közötti tárolása során követtük a kezdeti aromatartalom időbeni változását. Eredményeink szerint a ciklodextrin komplexek aromamegőrző képessége hosszú idejű tárolás során az aromaanyagok szerkezetétől függően változik.

Általános tendencia, hogy a terpenoid (pl. citrom, majoranna olaj)-, a fenil-propán (pl. mentaolajok, a mentol stb.)- és az alkil-szulfid (pl. fokhagyma- és vöröshagyma olaj)- típusú aromák nagyobb mértékben, a fenolos jellegűek (pl. eugenol, vanillin, fűstaromák) kevésbé maradnak stabilak. Ezt a tendenciát a 42.ábrán láthatjuk néhány aroma β -ciklodextrin komplexe példáján.

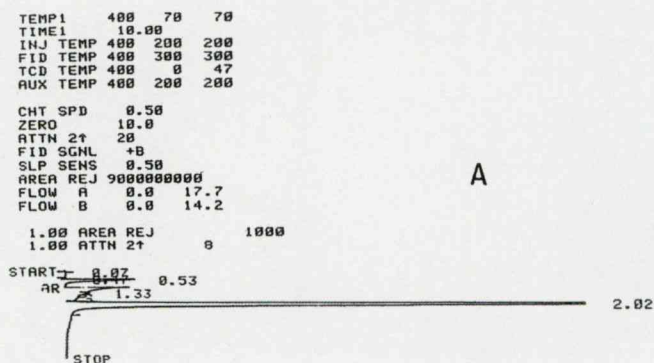


42. ábra Az aroma anyag/ β -ciklodextrin komplexek aromatartalmának változása normál körülmények között, 12 év alatt.

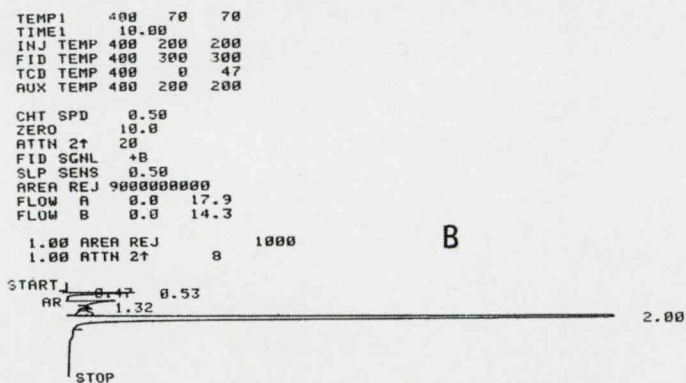
A ciklodextrinek alkalmazása az aromák nagy részének stabilizálására alkalmas, de vannak olyan speciális esetek, ahol a molekulaüreg/molekula kölcsönhatás geometriai és polaritási okok miatt nem lehetséges és így hatékony molekuláris kapszulázás nem valósul meg. Kimutattuk, hogy a kis molekulatömegű, kevésbé lipofil aromaanyagok még a legkisebb molekuláris méretű üreggel rendelkező α -ciklodextrinnel sem stabilizálhatók kellő hatékonysággal. (18, 20)

A hagyományos technológiákkal nehezen stabilizálható, de nagy gyakorlati jelentőségű, kis térkitöltésű aromaanyag, az acetaldehid, molekuláris kapszulázását ciklodextrinekkel nem tudtuk megoldani. Egy stabilis, szabályozott acetaldehid leadást biztosító formuláció előállítására ezért egy nem toxikus acetaldehid-prekursor molekula, az acetaldehid-dietil-acetál komplexálását végeztük el 2-hidroxi-propil- β -ciklodextrin (HP β CD) gazdamolekulával. Az így nyert szilárd formuláció hosszú ideig és kellő mértékben stabilizálta a bezárt acetaldehid prekuzort.

Az acetál/HP β CD komplex egyhetes, 60 °C –on történő tárolás során sem mutatott számottevő acetál veszteséget szilárd állapotban, míg a hagyományos, maltodextrines formulációban levő acetál azonos körülmények között teljesen elillant. (43.ábra)



HP RUN # 16	DEC/13/89	TIME 10:18:01
ESTD		
RT	EXP RT	AREA
2.02	2.01	448200
		CAL #
		(R) 1
		AMT
		1.087



HP RUN # 15	DEC/13/89	TIME 10:05:26
ESTD		
RT	EXP RT	AREA
2.00	2.01	432900
		CAL #
		(R) 1
		AMT
		1.023

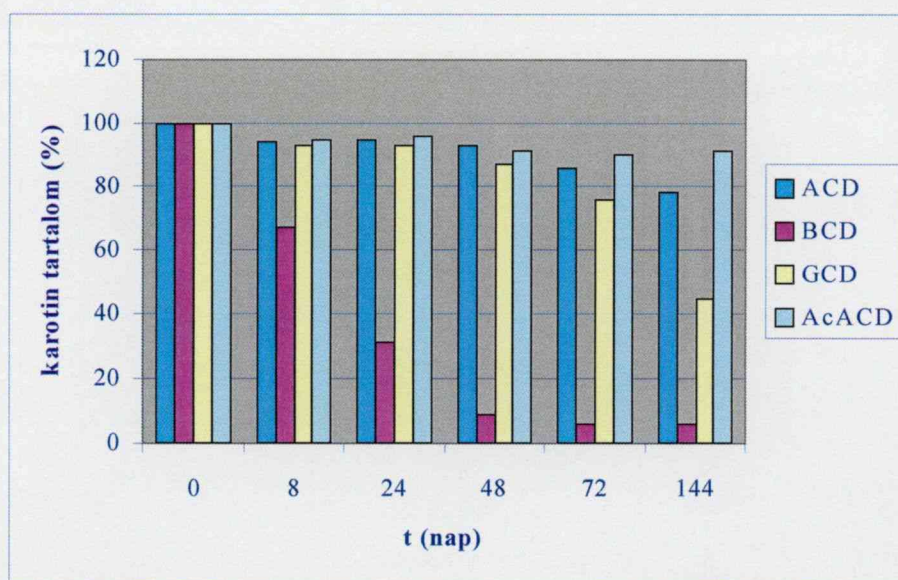
43. ábra Az acetál /hidroxipropil- β -ciklodextrin komplex stabilitásának gázkromatográfiás értékelése (A: acetál tartalom az előállítás után, B: 60 °C-os egyhetes tárolás után)

Enyhén savas-vizes közegben (pl. gyümölcslevek) az acetál/hidroxipropil- β -ciklodextrin komplexből folyamatos acetaldehid felszabadulás biztosítható. (20)

3.2.2. Természetes élelmiszerszínezékek ciklodextrin komplexei

Természetes élelmiszer-színezékek ciklodextrin komplexeinek vizsgálata során a polién típusú karotinoidok, a fenolos jellegű kurkuminoidok és a ciklodextrinek közötti kölcsönhatást tanulmányoztam.

Kimutattam, hogy a karotinoidok ciklodextrinekkel csak részlegesen komplexálhatók, és csekély mértékben védhetők az oxidáció, és a fénybomlás ellen. Igazoltam, hogy a zárványkomplex-képződés β -ciklodextrinnel, geometriai okok miatt, még nagy gazdamolekula mólfelesleg esetében sem válik teljessé. Emiatt a karotinok hatékony kémiai stabilizálása a β -ciklodextrinnel nem valósítható meg. Az irodalomban közölt biztató, de általunk nem reprodukálható eredmények ellenére bizonyítottuk, hogy a karotin típusú színezékek hatékonyan csak α -ciklodextrinnel és per-O-acetilezett-ciklodextrinekkel stabilizálhatók. (21) 44. ábra



44. ábra A β -karotin tartalom változása α - β - γ -ciklodextrin (ACD, BCD, GCD) és per-acetilezett- α -ciklodextrin (AcACD) jelenlétében 40 °C-on történő tárolás során.

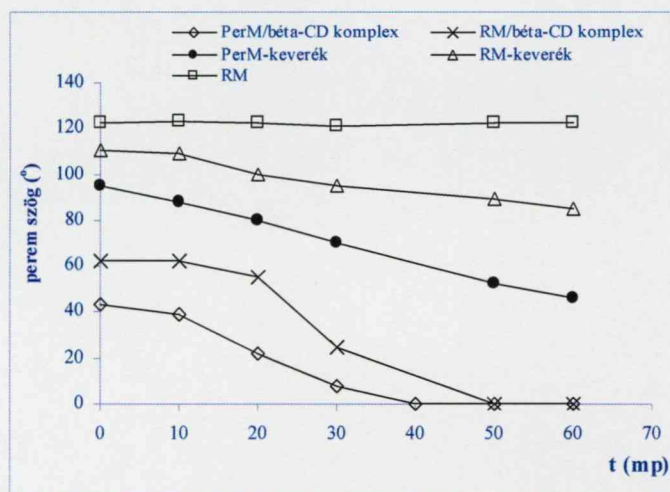
A fenolos jellegű kurkuminoidok viszont mindhárom natív ciklodextrinnel kölcsönhatnak, azokkal viszonylag nagy asszociációs állandójú zárványkomplexet képeznek. A szerves oldószerrel készült kurkuma kivonatok (lipofil oleorezinek) és a szintetikus kurkumin is hatékonyan komplexálható β -ciklodextrinnel.

3.3. Példák a ciklodextrin technológia szabályozott hatóanyag-leadású növényvédőszerekben történő alkalmazására

Ciklodextrin-alapú, szabályozott hatóanyag-leadású növényvédőszer-formulációk előállításának lehetőségeit, a molekulárisan kapszulázott peszticidek stabilitását és e formulációkból történő felszabadulásának mechanizmusát, valamint alkalmazásuk korlátait tanulmányoztam.

A jelenleg alkalmazott korszerű növényvédőszer-formulációk nagy része a hatóanyagok és különféle olcsó, biológiailag inert hordozók egyszerű mechanikus keverékei. Az agrokémiai szerek ilyen formulációkban sem kémiai, sem fizikai értelemben nem kellően stabilizáltak, és a szabályozott hatóanyag-leadás sem valósítható meg. Emiatt az agrokémiai szerek nagy részét – hatékonysági megfontolásból – rendszerint túldozírozzák, ami jelentős környezetkárosítást okozhat. A “csúcstechnológiának” számító növényvédőszer-formulációkban az illékony, kevésbé stabilis hatóanyagok többnyire mikrokapszulázott formában vannak jelen.

Mind a hagyományos, mind a modern növényvédőszer-formulázás terén különös hangsúlyt kap a nedvesedő porok (*wettable powder* WP-formulációk) előállítása. Felismertük, hogy a ciklodextrinnek - akár egyszerű mechanikus keverékek, akár valódi zárványkomplexek formájában - a lipofil peszticidek nagy része vízben jól nedvesedik, majd a nedvesedést követően fokozott vízdékonyságot mutat. A biner ciklodextrin-pesticid zárványkomplexek és egyéb formulációk nedvesedését összehasonlítva megfigyeltük, hogy már az egyszerű mechanikus keverékek (a ciklodextrin pusztán jelenléte) is számottevően jobban nedvesednek, mint a mikronizált szabad hatóanyagok. (45. ábra)



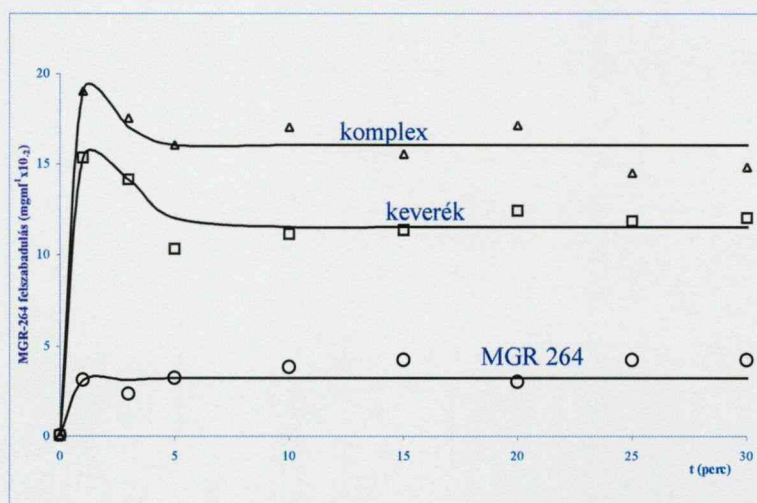
45. ábra A szabad, a β -ciklodextrinre adszorbeált és az azzal molekulárisan kapszulázott piretrinek (RM: rezmetrin, PerM: permetrin) nedvesedési kinetikája vízben.

Az árérzékeny növényvédőszer-formulációknál a hatóanyag/ciklodextrin komplexek gyakori 1:1 és 1:2 mólarányán kényszerűen változtatnunk kellett, azért, hogy magasabb hatóanyag tartalmú, gazdaságosabb formulációkat állíthassunk elő. Így, részben nem komplexált, tehát adszorbeált hatóanyag-felesleget is tartalmazó

ciklodextrines formulációk sajátosságait hasonlítottuk össze a valódi sztöchiometrikus zárványkomplexekével. (22)

Megállapítottuk, hogy a hatóanyag-felesleget tartalmazó ún. „hibrid” zárványkomplex+mechanikus keverék rendszerek is lényegesen jobban nedvesednek, oldódnak, és biológiailag is nagyobb mértékben hasznosulnak, mint a hagyományos formában alkalmazott növényvédőszer.

A ciklodextrin-alapú növényvédőszer-formulációk - a gyógyszer-hatóanyagokhoz hasonlóan - a hatóanyagok fokozott nedvesedését, molekuláris diszperzitását, gyorsabb oldódási sebességét, megnövekedett fizikai és kémiai stabilitását biztosítják. (46. ábra)

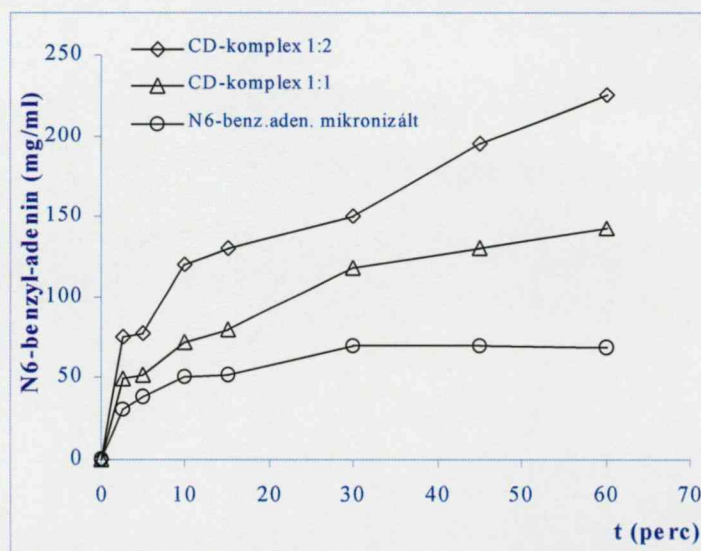


46. ábra Az MGR 264 növényvédőszer, β -ciklodextrines keveréke és zárványkomplexének *in vitro* kioldódási képe vízben.

A ciklodextrinnel formulázott növényvédőszer hatóanyagok felszabadulásának mértékét alapvetően a rendszer és a környezet víztartalma határozza meg. Több, mint 50 növényvédőszer ciklodextrin zárványkomplexének részletes vizsgálatával igazoltuk, hogy ezek állandó minőségű, kevesebb hatóanyag felhasználást igénylő és nedvesség által szabályozott hatóanyag-leadású, korszerű peszticid formulációk. Ilyen „víz által aktiválódó” peszticidek az agrokémiai szerkombinációk új, környezetkímélő generációjának tekinthetők, melyek iránt még csak most ébred az érdeklődés.

Részletesen tanulmányoztuk a növényi növekedésszabályozó anyagok molekuláris kapszulázásának lehetőségét, értékeltük a ciklodextrinnek segített hatóanyag-

formulázás előnyeit és korlátait. Természetes és szintetikus indol-karbonsavszármazékok, gibberellinek és benzil-adeninek ciklodextrin komplexeinek sajátosságait vetettük össze a hagyományosan formulázott szerekével, főként azok mikronizált változataival. A ciklodextrinek által biztosított molekuláris diszperzitás, a nedvesedés- és kioldódás fokozódása (47.ábra) a növényi “hormonok” megnövekedett biológiai hasznosulásában, élettani hatásában nyilvánult meg.



47. ábra A mikronizált N6-benzil-adenin és kétféle mólarányú β -ciklodextrin komplexének *in vitro* oldódási kinetikája vízben, 22 °C-on.

Az *in vitro* vízzoldékonysági- és oldódássebességi eredményekből a benzil-adenin fokozott biológiai elérhetősége és megnövekedett élettani hatása volt várható. Az üvegházi kísérletek igazolták is e feltevést. A 250 ppm koncentrációban a szabad benzil-adenin hatására a növények magassága és zöld tömege csak 2-6 %-kal nőtt, a komplexált szer ugyanebben a koncentrációban 20-30 %-os növekedést okozott. (Hung.Pat.Appl. 201.569. 1986.)

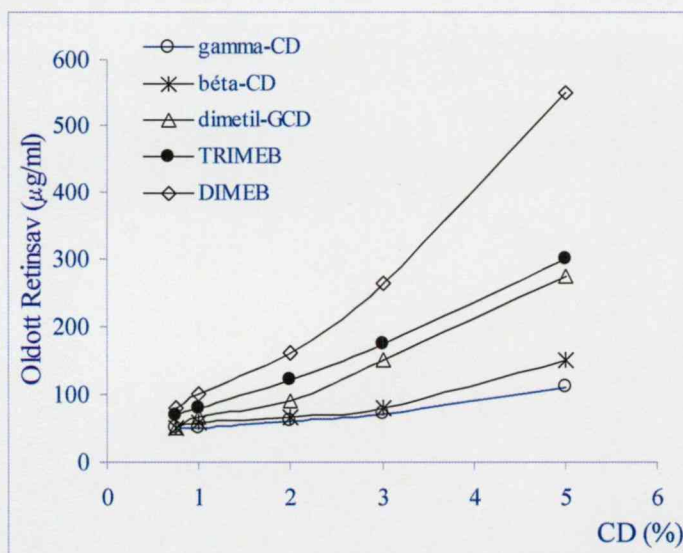
3.4. Példák az „üres” ciklodextrinek alkalmazására

„Üres” ciklodextrinokkal megvalósított, a nagy stabilitású komplexek képződésén alapuló, szelektív hatóanyag-mobilizálás- és immobilizálás tanulmányozása közben terápiás és környezetvédelmi jelentőségű felismeréseket tettünk.

3. 4.1. Az „üres” ciklodextrinek terápiás alkalmazása

Ciklodextrin alkalmazása detoxikálásra

A zsíroldékony A-vitamin származékok ciklodextrin zárványkomplexeinek tanulmányozása során kimutattuk, hogy a retinol, a retinsav és a retinil-acetát ciklodextrinnekkel nagy stabilitású zárványkomplexet képeznek. A retinoidok a legnagyobb stabilitású zárványkomplexet a metilezett ciklodextrinnekkel, különösen a heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrinnel képezik, amint az az izoterma vizsgálatok eredményeiből is leolvasható. (48.ábra)

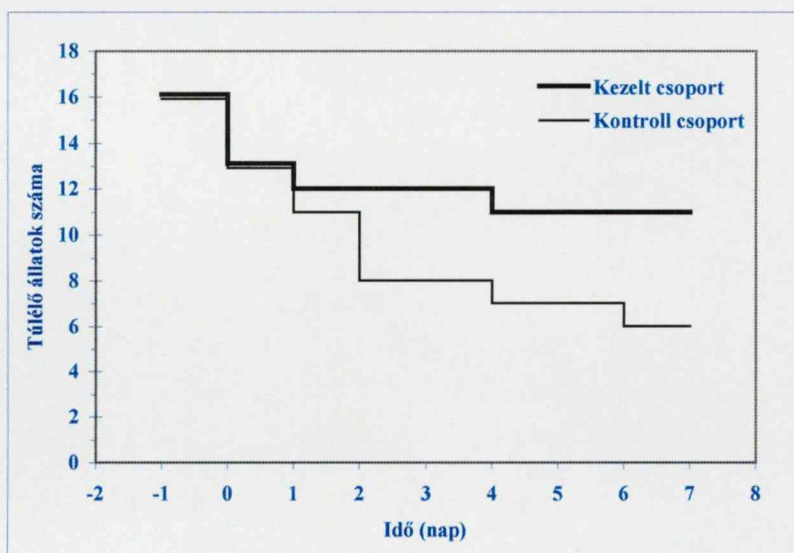


48. ábra A retinsav oldékonysági izotermái vízben, natív β - és γ -ciklodextrinnel, dimetil- β - és γ -ciklodextrinnel, valamint trimetil- β -ciklodextrinnel (23)

A dimetil- β -ciklodextrinnel molekulárisan kapszulázott retinoidok biológiai hozzáférhetősége a komplexképzés következtében már olyan mértékben fokozódik, ami a hatóanyagok „túldozированияához” vezethet. Ezt a jelenséget *in vivo* modellen, normál dózisu retinoid kezelés mellett is súlyos A-vitamin mérgezésként észleltük.

A váratlannak ugyan nem mondható, de terápiás és gyógyszer-biztonsági vonatkozásban figyelmeztető megfigyelésünk vetette fel azt a gondolatot, hogy - éppen ezt a kedvezőtlennek tűnő jelenséget felhasználva - „üres” ciklodextrineket kíséreljünk meg retinoid-mérgezéses állapot kezelésére alkalmazni. Természetesen erre csak olyan esetekben kerülhet sor, amikor a mérgező potenciális komplexképző anyag már a szisztémás keringésben van. A zárványkomplex-képzéssel megvalósítható méregtelenítés lehetőségét retinol és retinsav modell vegyületeken tanulmányoztam. Komplexképző gazdamolekulaként 2,6-di-O-metil- β -ciklodextrint

alkalmaztam, mert egyrészt a ciklodextrinek közül ez a származék képezi az esetek többségében a legnagyobb stabilitási állandójú komplexeket, másrészt a fenti, dimetil- β -ciklodextrin komplexálással előidézett A vitamin mérgezés is e ciklodextrin fajta használhatóságára utalt. A nagy dózisú retinollal előidézett A-hipervitaminózis tüneteinek megjelenése után a mérgezett állatokat „üres” dimetil- β -ciklodextrint tartalmazó infúzióval kezelve a hipervitaminotikus tünetek csökkenése volt észlelhető. A hatékony komplexképző dimetil- β -ciklodextrin szignifikánsan csökkentette a mérgezések súlyosságát, és növelte a mérgezett állatok túlélési arányát. Ugyanaz a dimetil- β -ciklodextrin, mely retinol zárványkomplex formájában adva súlyos, végzetes A vitamin mérgezést idézett elő, a retinollal előzetesen megmérgezett állatokba injektálva számottevően csökkentette az A-vitamin toxicitását és segítette kiürülését. (49. ábra)



49. ábra Retinol által okozott toxicitás csökkentése i.v. adott dimetil- β -ciklodextrinnel

Az eredmények értelmezésekor feltételeztük, hogy a dimetil- β -ciklodextrin komplexképződés révén hatékonyan mobilizálta a retinolt és - mintegy átvéve a retinol szállító fehérjéje (a transztiretin) szerepét - gátolta membránkötődését, azaz így segítette kiürülését. A kísérletek többszöri ismétlése egyértelművé tette, hogy a megfelelően megválasztott ciklodextrinek speciális esetekben csökkenthetik a már vérben keringő lipofil jellegű hatóanyagok mérgező hatását. (23)

Modell kísérleteink megállapításainak helyességét és eredményeink használhatóságát később, egy tőlünk független, klinikai beavatkozás igazolta.

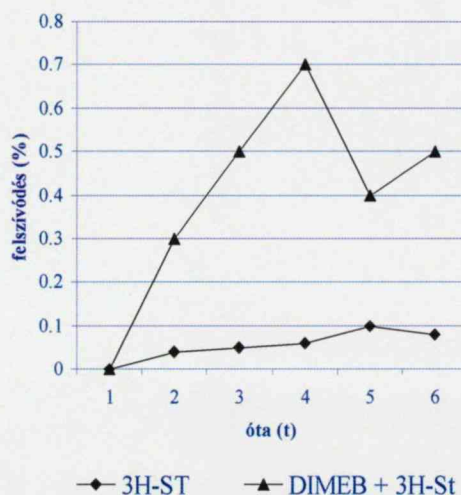
Egy öröklött A-vitamin intoleranciában szenvedő fiatal került toxikus állapotba. A hagyományos klinikai beavatkozások nem hoztak eredményt, így a beteget az általunk közölt kezelési protokoll szerint „üres” ciklodextrin származékkal (hidroxipropil- β -ciklodextrin infúzióval) kezelték a bostoni egyetem klinikáján. A parenterálisan jól tolerálható, ugyanakkor a retinoidokkal kellően nagy stabilitási állandójú komplexeket képző ciklodextrin-származék - állatkísérleteinkhez hasonlóan - csökkentette, majd megszüntette a toxikus állapotot. (*T. O. Carpenter és mstai: J. Pediatrics, 111. 507-512. 1987.*)

Hasonló – az általunk kezdeményezett - elven működik az Organon cég laboratóriumában kidolgozott eljárás a műtéti altatás során alkalmazott izomlazítók szervezetből történő gyors eltávolítására. (*Bom, A. és mtsai: Angew. Chem. Int. Ed. 41. 2. 266-270. 2002.*) Egy nagy stabilitási állandójú komplexet képező „üres,” ciklodextrin származékot alkalmaznak parenterálisan, hogy a vérben keringő izomlazítót (rocuronium-bromid) hatékonyan vonják ki a szervezetből. A jelenlegi klinikai gyakorlatban az izomrelaxáns antidótumát adják, azaz újabb gyógyszerrel terhelik a szervezetet, ami kellemetlen mellékhatással jár. A ciklodextrin alapú eljárást és az alkalmazott ciklodextrin származékot (per-6-dezoxi-per-6-szulfanil- γ -ciklodextrin) az Organon szabadalommal védte le.

Ciklodextrin alkalmazása az epe helyettesítésére

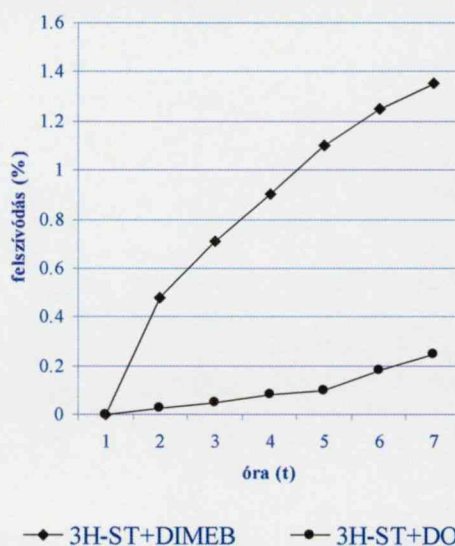
A korábban említett zsírsav/ciklodextrin kölcsönhatások (3.1.5. fejezet) tanulmányozása vezetett ahhoz a szintén terápiás vonatkozású feltételezésünkhöz, melyszerint a dimetil- β -ciklodextrin és zsírsavak közötti komplexképződésen alapuló hatékony zsír diszpergálás/szolubilizálás akár terápiás célra is alkalmazható. Az in vitro oldékonyságfokozási és komplexképződési vizsgálataink alapján a dimetil- β -ciklodextrin orális adagolásával terveztük epehiányos állapotok kezelését. A zsírsavak epesavakkal történő diszpergálásának folyamatát kívántuk dimetil- β -ciklodextrinnel javítani, illetve az epesavakat ily módon helyettesíteni. Modell állatkísérletben, műtéti beavatkozással gátolva az epe ürülését, vizsgáltuk a radioaktív sztearinsavval és telítetlen zsírsavakkal etetett, kezeletlen és dimetil- β -ciklodextrinnel kezelt állatok vérlipid szintjét. Az aktuális vérzsír-szintet és annak összetételét hasonlítottuk össze a két állatcsoportban. A véranalitikai eredmények szerint az epe

zsír-diszpergáló funkciója a szájon át adott dimetil- β -ciklodextrinnel helyettesíthető.
(50.ábra)



50. ábra A dimetil- β -ciklodextrin (DIMEB) hatása a radioaktív sztearinsav (3H-ST) felszívódására epehiányos állatokon

Az „üres” metil-ciklodextrin-származék zsírdiszpergálódást- és emésztést segítő szerepét először mi ismertük fel, és ezzel együtt leírtuk, hogy a dimetil- β -ciklodextrin orális alkalmazása még nagyobb dózisokban (kb. 0.1g/ts.kg) sem okoz észlelhető káros mellékhatást. (24) Kimutattuk, hogy a dimetil- β -ciklodextrin vízoldható komplexeket képezve a zsírsavak diszpergálódását és felszívódását olyan mértékben fokozza, amely még az epesavak hatását is felülmúlja. Az 51. ábra a dimetil- β -ciklodextrin és a dezoxikólsav jelzett sztearinsav in vivo felszívódására gyakorolt hatását mutatja.



51. ábra A dimetil- β -ciklodextrin (DIMEB) illetve a dezoxikólsav (DOC) hatása a radioaktív sztearinsav (3H-ST) felszívódására epehiányos állatokon

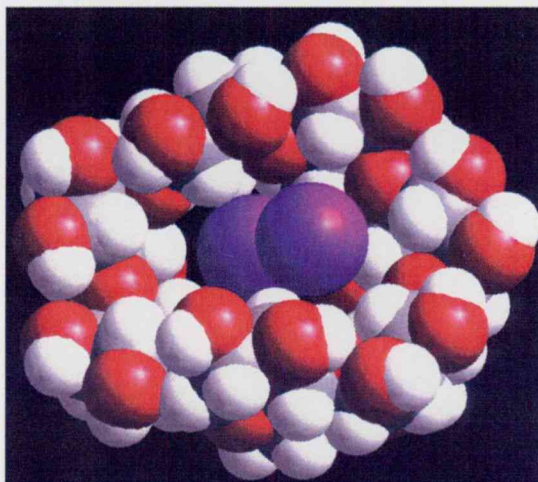
Az „üres,” ciklodextrinek, mint potenciális komplexképzők, a fenti eredmények alapján alkalmasnak tűnnek az epehiányos állapot kezelésére, a zsíremésztés elősegítésére.

3.4.2. Az „üres” ciklodextrinek környezetkémiai alkalmazása

Ciklodextrin-alapú, szelektív jódmegkötő rendszerek

“Üres” ciklodextrint tartalmazó, a zárványkomplex-képződés elvén működő, szelektív és hatékony jódmegkötő rendszerek, csapdák kifejlesztését valósítottuk meg, mellyel a környezetbe jutó elemi jód mennyisége hatékonyan csökkenthető. Ismeretes volt, és saját vizsgálataink is igazolták, hogy a ciklodextrinek a halogénnel, de különösen a jóddal nagy asszociációs állandójú, nem-kovalens zárványkompleket képeznek. (Diard, J.P. J.: *Electroanal. Chem.* 79. 13. 1985.) A jódmolekula kiváló illeszkedését a β -ciklodextrin üregében az 52. ábra szemlélteti.

Kimutattuk, hogy ez a komplexképződés mind gáz/szilárd, mind gáz/folyadék rendszerekben, atmoszférikus nyomáson és normál hőmérsékleten is végbemegy, ezért a ciklodextrin alapú – molekuláris kapszulázás elvén működő - jódcsapdák gyakorlati alkalmazása jó eséllyel megvalósítható.

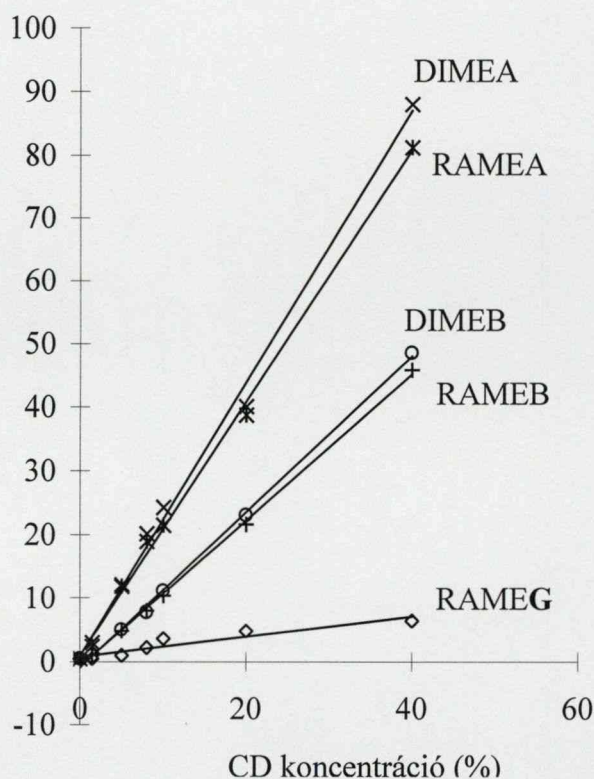


52. ábra Az 1:1 molarányú jód/ β -ciklodextrin zárványkomplex szerkezetét szemléltető model

A ciklodextrinek jód-komplexáló képességének az atomerőművi radioaktív jódkibocsátás minimalizálása terén lehet gyakorlati jelentősége, mely témának az emlékeztető csernobili baleset adott különleges aktualitást. Az atomerőművi hasadás

($U^{235} \rightarrow Te^{135} \rightarrow I^{135} \rightarrow Xe^{135} \rightarrow Cs^{135} \rightarrow Ba^{135}$) folyamán keletkező illékony jód és xenon izotópok levegőbe kerülésének megakadályozása kulcsfontosságú. Míg a jód és a xenon izotópok felezési ideje órák nagyságrendű, a következő hasadási terméké, a céziumé, már millió éves. Az elemi jód és a ciklodextrinek közötti zárványkomplekxképződés részletes tanulmányozása során két, különböző felépítésű, de azonos elven működő jódmegkötő rendszert fejlesztettünk ki. Ezek a jódcsapdák lehetnek metilezett- α - és β -ciklodextrint tartalmazó vizes oldatok, permetek, vagy kálium-jodiddal impregnált, térhálósított, α - és β -ciklodextrin alapú, gyöngypolimer álló fázisok. Megállapítottuk, hogy az oldatban és oldattal történő jódkötés leghatékonyabban metilezett α -ciklodextrin származékokkal valósítható meg. Oldékonysági izoterma vizsgálatokkal igazoltuk, hogy az elemi jód a metilezett α -ciklodextrinokkal lényegesen nagyobb stabilitási állandójú komplexeket képez, mint a nagyobb üregátmérőjű metilezett β - vagy γ -ciklodextrinokkal. (53. ábra és 8. táblázat)

Jódkoncentráció (mg/ml)



53. ábra Az elemi jód oldékonysági izotermái 2,6-di-metil- α -ciklodextrin (DIMEA) 2,6-di-metil- β ciklodextrin (DIMEB) és a random-metilezett ciklodextrinek (RAMEA, RAMEB és RAMEG) jelenlétében.

A fenti oldékonysági izoterma adatokból számított komplex stabilitási állandók - elemi jód/ciklodextrin-metiléter 1:1 mólarányú zárványkomplexekre vonatkoztatva a kis üregméretű metilezett α -ciklodextrinek kimagasló jódkötő képességére utalnak. A nagyobb üregátmérővel rendelkező β -ciklodextrin-metiléterek szintén jelentős affinitással komplexálják a jódot. A γ -ciklodextrin metilezett származékának azonban nincs gyakorlatilag hasznosítható jódkötő képessége.

8. Táblázat A jód/metil- ciklodextrin komplexek stabilitási állandói 25 °C-on
ionmentes vízben (M^{-1})

DIMEA	RAMEA	DIMEB	RAMEB	RAMEG
1.58×10^4	4.38×10^3	1.01×10^3	834	58.5

Az oszloptöltetként használt térhálós ciklodextrin-polimerek hatékonyságát a jelenleg használt aktív szenes szűrőkével összevetve kimutattuk, hogy a ciklodextrin-polimerből készített csapdák szelektivitása és fajlagos jódkötése felülmúlja mind a szerkezetileg analóg, dextrán-alapú tölteteket, mind az aktív szenes szűrőket. (9. Táblázat) Ez - a jódkötés hatékonyságában jelentkező - különbség magas hőmérsékleteken még kifejezettebben jelentkezik a ciklodextrin alapú jódcsapdák javára.

9. Táblázat. Az α - és β -ciklodextrin gyöngy polimerekkel (α CDP, β CDP) töltött oszlopok jódkötő képessége a dextrán polimer alapúakkal összevetve

Töltet	I ₂ áttörési idő* (óra)	Megkötött I ₂ (mg/cm ³ töltet)	Megkötött I ₂ (mg/g száraz töltet)
α CDP, száraz	1	1.2	5.9
α CDP, vízzel nedvesített	9.5	23.8	119.1
α CDP, 0.1 N KI-dal nedvesített	18	44.4	226.8
β CDP száraz	1	0.8	1.3
β CDP vízzel nedvesített	3	7.4	36.8
β CDP 0.1 N KI-dal nedvesített	16	38.6	192.8
Dextrán polimer, száraz	<0.01	<0.2	<1
Dextrán polimer, vízzel nedvesített	0.2	0.8	4.3
Dextrán polimer, 0.1 N KI-dal nedvesített	2	5.0	25

*a töltött oszlopokon átvezetett levegőben először detektálható jód megjelenésének ideje

A fenti eredmények alapján nemcsak a ciklodextrin polimer alapú töltetek jódkötő képessége, hanem a jódkötés mechanizmusa, a zárványkomplex képződése is látszik. A molekuláris kapszulázáshoz szükséges víz kulcsszerepére a nedves, és száraz töltetek jódkötő kapacitása között észlelt különbség utal. Kimutattuk, hogy a ciklodextrin polimer alapú jódcspadák a zárványkomplex formában kötött jódot még magasabb hőmérsékleten is visszatartják. Emiatt a ciklodextrin alapú jódszűrő töltetek a jód-megtartás tekintetében is biztonságosabbnak tűnnek, mint az atomerőművekben ma általánosan alkalmazott aktív szenes szűrők. Méréseink szerint az aktív szenes szűrők közel kétszer annyi jódot veszítenek 60°C-on, mint a ciklodextrin polimeres töltetek. (10.Táblázat)

10. Táblázat. Ciklodextrin polimerekkel kötött jód leadása 60°C-on, nyitott edényekben történő tárolás során

Töltet	I ₂ veszteség (%) a tárolás alatt 60°C-on				
	0 óra	4 óra	8 óra	12 óra	24 óra
száraz αCD polimer	0	6	9	10	10
Nedves αCD-polimer	0	9	14	15	15
száraz βCD-polimer	0	12	12	21	29
Nedves βCD-polimer	0	17	17	27	32
Aktív szén	0	28	34	62	72

A ciklodextrin polimer-alapú töltetek szükség esetén regenerálhatók, tehát magasabb árak ellenére is gazdaságosan és hatékonyan használhatók környezetvédelmi célra. (25)

4. Irodalmi tevékenység

Saját kísérletes munkáim és irodalmi adatok feldolgozásával, négy fejezetben, részben egyedüli, részben társszerzőként, foglaltam össze a ciklodextrin zárványkomplexek előállításáról, vizsgálatáról, különleges vendégmolekulák és a növényvédőszer ciklodextrin komplexeiről rendelkezésre álló ismereteket a *Comprehensive Supramolecular Chemistry* c. 11 kötetes sorozatban. (26, 27, 28)

A munkásságom túlnyomó részét kitevő kísérletes laboratóriumi munka mellett, a ciklodextrinek irodalmának alapos ismerete és feldolgozása, pályafutásom során meghatározó szerepet játszott. A téma irodalmában való kellő jártasság mind a felesleges ismétlések, “újra-felfedezések” elkerülésében, mind a hatékony és célirányos kísérlettervezésben, mind pedig a sokszor meglepő eredmények megvitatásában értékes eszköznek bizonyult. Ez a szakirodalmi ismeretanyag hatékony segítséget nyújtott iparjogi problémák elkerülésében is, és új, sokszor találmányi értékű felismerések megszületéséhez vezetett.

5. Összefoglalás: a dolgozatban bemutatott eredmények jelentősége

Munkásságom közvetlenül vagy közvetve része számos terméknek vagy eljárásnak, ahol a ciklodextrineket már alkalmazzák, vagy belátható időn belül alkalmazni fogják. Ilyenek pl.:

- Illékony, bomlékony, folyékony halmazállapotú aroma anyagokból stabilis, szilárd harmazállapotú termékeket (élelmiszer- ill. gyógyszer adalékként) gyártanak (saját cégünk is) és forgalmaznak. E technológiához vezető alapismereteket, a terpenoidok hatékony komplexálásának feltételeit mi írtuk le elsőként. Az optimális üregméretű ciklodextrin kiválasztásában és az aromakomplexek sajátságainak részletes leírásában is jelentős szerepet játszottunk.
- A jód-ciklodextrin kölcsönhatás tanulmányozása során szerzett tapasztalatokat adaptáltuk környezetvédelmi célra. Alkalmas ciklodextrin származékokkal az elemi jódot gáz fázisból és vízből nagy hatásfokkal megkötő „csapdák” prototípusait írtuk le. Ezekkel a jód környezetbe jutása és szétszóródása hatékonyan gátolható. (A módszer atomerőművi kipróbálása a közeljövőben várható.)
- Rosszul oldódó gyógyszer-hatóanyagok oldódását, felszívódását, biológiai hasznosíthatóságát, farmakokinetikáját jelentősen meg lehet javítani – ilyen gyógyszerek már vannak forgalomban. Két ilyen termék fejlesztésében vettünk részt.
- Vízben gyakorlatilag oldhatatlan hatóanyagokból vizes oldatokat (pl. szemcseppeket, injekciókat) lehet előállítani az általunk kidolgozott módszerekkel. Elsőként írtuk le és értelmeztük a γ -ciklodextrin vizes oldatában fellépő ön-aggregáció jelenségét. Itt mutattunk rá a vízben jól oldódó és parenterálisan jól

tolerálható natív γ -ciklodextrin vizes gyógyszerformákban történő használhatóságának korlátaira. E témakörében végzett munkánk eredménye egy új, javított sajátságú, hidroxipropil- γ -ciklodextrin tartalmú *Voltaren®* (Novartis) szemcsepp, mely Európában forgalomba került.

- A természetes zsírsavak és egyéb lipidek vízzoldható komplexeinek képződését tanulmányozva eljárást dolgoztunk ki előállításukra. Lipidek vizes oldatainak tulajdonságait elsőként írtuk le, és tettünk javaslatot biológiai felhasználásukra. A vízzoldható zsírsav/ciklodextrin komplexeink segítségével a leprabacillus (*Mycobacterium leprae*) *in vitro* laboratóriumi rutin tenyésztése vált lehetővé.

- Vizes közegben oldható szteroidokat és egyéb lipofil jellegű szövettenyésztési segédanyagokat fejlesztettünk ki. Ezek laboratóriumi alkalmazása már évek óta folyik, ipari méretekben történő felhasználásuk mind oltóanyagok, mind humán sejtek szaporítása terén éppen most kezdődött. (Human Genom Enterprise Inc. és Merck USA)

- Elsőként ismertük fel az üres ciklodextrinek detoxikálásban történő alkalmazásának lehetőségét. Az A-hipervitaminózis klinikai kezelésének alapjait írtuk le nagy stabilitási állandójú komplexet képező ciklodextrin-származékok parenterális alkalmazásával. Azóta ezt a kezelési protokolt klinikailag is sikerrel használják detoxikálásra az USA-ban. Európában most került klinikai fázisba a műtéti altatás során alkalmazott izomlazítók gyors eltávolításának módszere egy parenterálisan adott üres ciklodextrinnel. (Organon)

- Aktív részese voltam egy, azóta FDA-engedélyezett ciklodextrin-származék, a hidroxipropil- β -ciklodextrin gyógyszer-segédanyag fejlesztésének.

- Két, ma elterjedten alkalmazott vizsgálati módszert fejlesztettem a szilárd ciklodextrin komplexek nedvesedés vizsgálatára, illetve termikus stabilitásuk TAS kromatográfiával történő jellemzésére.

- A nagy izomer tisztaságú cGMP-komform heptakis-2,6-di-O-metil- β -ciklodextrinünk egy kardiológiai diagnosztikum vívóanyagaként az Egyesült Államokban az ún. Klinika-II kipróbálás szakaszában van. (Schering AG)

- A Sigma finomvegyszer vállalat több, vízzoldható lipid/ciklodextrin komplexünket forgalmazza szövetkultúra- és mikrobiológiai táptalajok adalékaként.

6. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom *Prof. Szejtli Józsefnek*, a CYCLOLAB Kft. Széchenyi-díjas igazgatójának, a ciklodextrin kutatás- és alkalmazások nemzetközileg elismert vezető személyiségének, aki tanácsaival és kritikáival egyaránt közvetlen hatással volt tudományos pályafutásomra. Laboratóriumában a szigorú gyógyszergyári körülmények ellenére biztosította fiatal kutatók számára az ösztönzően játékos, szabadelvű, ám rendszeres számonkérésekkel és pontos kutatási tervekkel szabályozott munkahelyi légkört. Nemzetközi hírneve - az akkori nehéz viszonyok mellett is - sokunk számára tette lehetővé a szakmai világlátást.

Sokat köszönhetek *Josef Pitha* professzornak, a National Institute of Health Makromolekuláris kémiai osztálya vezetőjének, akivel hosszabb időt dolgoztam együtt, és aki figyelememet a komplexkémiai jelenségek biológiai és terápiás hasznosítása felé irányította.

Köszönöm a dolgozatban összefoglalt eredmények megszületésében szerepet játszó minden munkatársam segítségét is, nevük közleményeink és találmányaink társszerzői, társhelftalálói között szerepel.

A ciklodextrin alapú jód-megkötő rendszerekkel kapcsolatos kutatás pénzügyi háttérét részben az OTKA támogatta, melyért e helyen is köszönetet mondok.

7. Az értekezés alapjául választott közlemények jegyzéke

1. Szejtli, J. Szente, L.: Interaction between indomethacin and beta-cyclodextrin, *Pharmazie*, 36 (10), 694-8, (1981)
2. Pitha, J., Szente, L., Szejtli, J. Molecular encapsulation of drugs by cyclodextrins and congeners. In *Controlled Drug Delivery Vol. I. Basic Concepts*, Ed. S.D. Bruck, CRC Press inc. Boca Raton, Fl. Page 126-146. 1983.
3. Géczy, J.; Bruhwylér, J.; Scuvee-Moreau, J.; Seutin, V.; Masset, H.; Van Heugen, J. C.; Dresse, A.; Lejeune, C.; Decamp, E.; Szente, L.; Szejtli, J.; Liegeois, J.-F.: The inclusion of fluoxetine into gamma-cyclodextrin increases its bioavailability: behavioral, electrophysiological and pharmacokinetic studies. *Psychopharmacology* (Berlin), 151(4), 328-334, (2000)

4. Gál-Füzy, M.; Szente, L.; Szejtli, J.; Harangi, J. Cyclodextrin-stabilized volatile substances for inhalation therapy *Pharmazie*, 39(8), 558-9, (1984)
5. Szente, L.; Apostol, I.; Szejtli, J.: Suppositories containing beta-cyclodextrin complexes. Part 1: stability studies: *Pharmazie*, 39(10), 697-9, (1984)
6. Szente, L.; Apostol, I.; Gerlóczy, A.; Szejtli, J.: Suppositories containing cyclodextrin complexes. Part 2: Dissolution and absorption studies *Pharmazie*, 40(6), 406-7, (1985)
7. Szente, L.; Kis G. L.; Schoch, C.; Fetz, A.; Szemán J.; Szejtli J.: Development of a DiclofenacNa/HP-gamma-CD Ophthalmic Composition 10th International Cyclodextrin Symposium, Ann Arbor, Michigan, USA, May, (2000)
8. Szente, L., Szejtli, J.; Kis, G., L.: Spontaneous opalescence of aqueous gamma-cyclodextrin solutions: complex formation or self-aggregation? *J. Pharm. Sci.* (1998), 87(6), 778-781, (1998)
9. Szente, L., Szejtli, J.: Highly soluble cyclodextrin derivatives: chemistry, properties, and trends in development *Adv. Drug Delivery Rev.* (1999), 36(1), 17-28, (1999)
10. Szente, L. Szejtli, J. Szemán, J. Kato, L.: Fatty acid-cyclodextrin complexes: properties and applications *J. Incl.Phén. Mol. Rec. Chem.* (1993), 16(4), 339-54, (1993)
11. Kato, L. Szejtli, J.; Szente, L.: Water-soluble complexes of C₁₄ and C₁₆ fatty acids and alcohols in media for cultivation of leprosy-derived psychrophilic mycobacteria *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* (1994), 62(1), 75-88, (1994)
12. Kato l.; Szejtli J.; Szente L.: Water-soluble complexes of plamitic acid and palmitates for metabolic studies and cultivation trials of *Mycobacterium leprae* *International Journal of Leprosy* 60, No.1., 105-107, (1992)
13. Szente, L. Vikmon, M. Szejtli, J. : Inclusion complexes of Taxol Taxotere and taxus extracts formed with cyclodextrins, their preparation and use. US Patent No. 6,284,746 Sept. 4. 2001.

14. Szente, L. Vikmon, M. Szejtli, J. Szemán, J.: Complexes and their Pharmaceutical compositions US Patent No. 6,432,928 Aug. 13. 2002.
15. Szente, L.; Vikmon, M.; Szemán, J.; Otta, K.: Methyl-beta-cyclodextrin/paclitaxel aqueous solutions: a tool to test Cremophor-free paclitaxel S.T.P. Pharma Sci., 9 (3), 243-247, (1999)
16. Szente, L. Strattan, C.E. Hydroxypropyl- β -cyclodextrins: preparation and physicochemical properties in *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*, Edition de Santé, Paris, Ed. D. Duchene pages 57-97. 1991.
17. Buchanan, C.M. S.R. Alderson, C.D. Cleven D. Dixon, R. Iványi D. Lowman, R. Offerman, L. Szente, and J. Szejtli Synthesis and characterization of water-soluble hydroxybutenyl cyclomaltooligosaccharides Carbohydr. Res. 337. 493-507. 2002.
18. Szejtli, J. Szente, L. Bánky-Előd, E: Molecular encapsulation of volatile, easily oxidizable labile flavor substances by cyclodextrins Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 101(1-2), 27-46, (1979)
19. Szente, L.; Szejtli, J.: Molecular encapsulation of natural and synthetic coffee flavor with beta-cyclodextrin J. Food Sci., 51(4), 1024-7, (1986)
20. Szente, L.; Szejtli, J.: Cyclodextrin-complexed acetal as an acetaldehyde generator Perfum. Flavor. (1995), 20(2), 11-13, (1995)
21. Szente, L. Mikuni, K.; Hashimoto, H.; Szejtli, J.: Stabilization and solubilization of lipophilic natural colorants with cyclodextrins J. Inclusion Phenom. Mol. Recognit. Chem. (1998), 32(1), 81-89, (1998)
22. Szente, L., Magisztrák, H., Szejtli, J.: Formulation of insect controlling agents with beta-cyclodextrin Pest. Sci., 28 (1), 7-16, (1990)
23. Pitha, J.; Szente, L.: Rescue from hypervitaminosis-A or potentiation of retinoid toxicity by different modes of cyclodextrin administration Life Science, 32 (7), 719-23, (1983)
24. Gerlőczy, A. Szente, L., Szejtli, J. Improvment of fat digestion in rats by dimethyl- β -cyclodextrin J.Incl. Phenom. Mol. Recogn. 5. 415-419. (1987)

25. Szente, L., Fenyvesi, E., Szejtli, J.: Entrapment of Iodine with Cyclodextrins: Potential Application of Cyclodextrins in Nuclear Waste Management Environ. Sci. Technol. 33(24), 4495-4498, (1999)
26. Szente, L.: Preparation of cyclodextrin complexes Compr. Supramol. Chem. (1996), Volume 3, 243-252. Ed. Jean-Marie Lehn, vol. Editor(s): Szejtli, J. Osa, T. Publisher: Elsevier, Oxford, UK., (1996)
27. Szente, L.: Analytical methods for cyclodextrins, cyclodextrin derivatives, and cyclodextrin complexes. Compr. Supramol. Chem. (1996), Volume 3, 253-278. Ed. Jean-Marie Lehn vol. Editor(s): Szejtli, J. Osa, T. Publisher: Elsevier, Oxford, UK., (1996)
28. Szente, L., Szejtli, J.: Cyclodextrins in pesticides Compr. Supramol. Chem. (1996), Volume 3, 503-514. Ed. Jean-Marie Lehn, vol. Editor(s): Szejtli, J.; Osa, T. Publisher: Elsevier, Oxford, UK., (1996)